

SCREENING DE EXTRACTOS VEGETALES PARA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE: UN ESTUDIO COMPARATIVO DE ALGUNAS ESPECIES MEDICINALES DE USO POPULAR EN EL TOLIMA

SCREENING OF VEGETABLE EXTRACTS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY: A COMPARATIVE STUDY OF SOME MEDICINAL SPECIES OF POPULAR USE IN TOLIMA

Elizabeth Murillo, Heidy Ortíz, Wilmer Sánchez,
Fabian Suescún, Edinson Yara y Jonh Jairo Méndez
Grupo de investigación en Química de Productos Naturales “GIPRONUT”

RESUMEN

Se estudió comparativamente la actividad antioxidante de *Lippia alba*, *Justicia pectoralis* y *Bauhinia kalbreyeri*, tres especies de uso medicinal en el Tolima. A partir de las partes aéreas de los vegetales se obtuvieron extractos orgánicos y acuosos, a los cuales se les midió la actividad antirradical frente al 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH), la capacidad inhibitoria del HO, y se comparó esta actividad con el contenido fenólico total. El trabajo se complementó con un tamizaje fitoquímico. Los resultados permiten concluir que el uso etnofarmacológico dado a estas plantas encuentra respaldo en las propiedades funcionales evidenciadas, y que algunos efectos biológicos o farmacológicos como antiinflamatorios, antibacterianos y especialmente antidiabéticos, relatados en la literatura, justifican la aplicabilidad de estas especies en la herbolaria tolimense.

Palabras clave: actividad antioxidante, actividad antimicrobial, contenido fenólico, *Lippia alba*, *Justicia pectoralis*, *Bauhinia kalbreyeri*, DPPH, flavonoides

Fecha de recepción: Agosto 31 de 2007

Fecha de aceptación: Mayo 2 de 2008

Correspondencia: E-mail: emurillo8@hotmail.com, jmendez@ut.edu.co
Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima.
Altos de Santa Elena. Ibagué – Tolima Colombia

ABSTRACT

It was studied comparatively antioxidant activity of *Lippia alba*, *Justicia pectoralis* and *Bauhinia kalbreyeri*, three specimen of medicinal use in Tolima. From the aerial parts of plant extracts were obtained organic and aqueous, to which they measured the activity against the antiradical front of the 1.1 diphenyl 2 picryl hydrazyl (DPPH), the HO inhibitory capability, and this activity compared 22 with phenolic total contents. The work was complemented with a phytochemistry preliminary analysis. The results allow concluding that the use ethnopharmacology support in the functional evidenced properties finds these plants and then some biological or pharmacologic effects antinflammatory, antibacterial and especially antidiabetic, narrated in literature, justify the applicability of these species in the herbalist's of Tolima.

Key words: Antioxidant activity, antimicrobial activity, phenolic content, *Lippia alba*, *Justicia pectoralis*, *Bauhinia kalbreyeri*, DPPH, flavonoids

Introducción

La botánica y la medicina han estado siempre relacionadas; lo demuestra el hecho de que a lo largo de la historia las civilizaciones se han movido alrededor de las plantas, convirtiéndose en los seres vivos que más influencia han tenido en la humanidad, un patrimonio que no puede atribuirse a ninguna cultura en particular sino al hombre en su globalidad. Particularmente hablando, las plantas medicinales son aquellas que en toda o alguna de sus partes constitutivas contienen principios activos útiles para combatir enfermedades. Así, mezcla de magia y religión, mezcla de necesidad y casualidad o de ensayo y error el paso de las diferentes culturas ha creado todo un conocimiento de remedios vegetales que ha constituido la base de la medicina moderna.

En la actualidad se estima que alrededor del 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional herbolaria para la atención primaria de la salud (1). En Asia, millones de personas mantienen su salud mediante el uso de hojas, raíces y cortezas de árboles, el 25% de las medicinas prescritas por los médicos europeos se derivan de plantas existentes en los bosques. Un 60% de la población estadounidense utiliza habitualmente plantas medicinales para combatir ciertas dolencias. En Japón hay más demanda de plantas medicinales que de medicinas oficiales, y en Colombia, cuya riqueza florística se estima en más de 40.000 especies, el 10% son reportadas con propiedades fitoterapéuticas. No obstante, queda en la tierra un número vastísimo de especies de plantas cuya utilidad potencial jamás ha sido seriamente explorada y quizá muchas

de ellas lleguen a extinguirse antes de que eso ocurra (2).

Pese a todo, la medicina herbal incluye riesgos propios como la posibilidad de interacciones adversas, ya entre productos herbales o con fármacos industriales, debido a la presencia y dosificación variable de numerosos principios activos en los preparados, y la posibilidad a veces fatal de confusión que provoca la nomenclatura inestable de los vegetales, a lo que se adiciona que sólo el 10% de las plantas con posibilidades curativas cuentan con estudios científicamente comprobados (1)

Uno de los temas más estudiado en la medicina natural moderna es el estrés oxidativo, un término empleado para denotar un desbalance entre la producción de especies químicas oxidantes y los sistemas de defensa antioxidantes del organismo (3). Para combatir el estrés oxidativo los organismos vivos dependemos de antioxidantes exógenos y endógenos, sin embargo estos últimos no son completamente efectivos y su acción debe reforzarse a través de los antioxidantes exógenos; pese a que su forma de acción no es del todo conocida, la interacción compleja entre éstos y los macronutrientes así como la forma más efectiva de suministrarlos, mediante la ingesta

diaria o con suplementación farmacológica, requiere más investigación.

Algunas plantas medicinales y hierbas culinarias resultan de particular interés, ya que pueden llegar a ser utilizadas para la producción de materiales crudos o preparaciones que contengan compuestos con significativo efecto antioxidante; acción atribuída, al menos en parte, a la presencia de vitamina C, E y carotenoides (4,5). En otras plantas la propiedad antioxidante se atribuye fundamentalmente a los compuestos de tipo fenólico, tales como flavonoides (6), ácidos fenólicos y diterpenos fenólicos (4). Sin embargo, la información científica sobre estas características en un buen número de ellas es aun incipiente. Entonces resulta de particular importancia abordar esta tarea, especialmente por el hallazgo de nuevas fuentes de antioxidantes naturales, alimentos funcionales y nutraceuticos. La contribución de este trabajo es comparar tres especies medicinales de uso popular en el Tolima en cuanto a su contenido fenólico, evaluar la actividad antioxidante de los extractos con diferente polaridad y correlacionar estas propiedades funcionales con el uso dado en la herbolaria tolimense, buscando con ello dar soporte científico a esta aplicación.

Parte Experimental

Reactivos químicos

Todos los productos químicos manejados en este trabajo, incluidos los solventes, fueron de calidad pura para análisis.

Material Vegetal

Hojas y tallos de *Lippia alba* (Verbenaceae), la parte aérea de *Justicia pectoralis* (Acanthaceae) y hoja y corteza de *Bauhinia kalbreyeri* (Fabaceae), fueron recolectadas en estado óptimo de desarrollo vegetativo y fitosanitario en la zona suburbana del municipio de Ibagué (1350 m.s.n.m., 27 °C). Las plantas se transportaron en bolsas negras de polietileno debidamente rotuladas hasta el laboratorio, se secaron en invernadero a temperatura ambiente (72h), se trituraron y almacenaron en sitio fresco protegidas de la luz directa hasta su utilización. Un ejemplar de *L. alba* y de *J. pectoralis* reposa en el Herbario Toli de la Universidad del Tolima, el correspondiente a *B. kalbreyeri* se encuentra en el Herbario Nacional de la Universidad Nacional de Colombia.

Obtención de extractos

El material seco y molido de *Justicia pectoralis* se maceró durante 48 horas, utilizando como solventes orgánicos etanol y acetato de etilo por separado en proporción 1:20, vegetal/solvente,

se agitó ocasionalmente para mejorar el proceso de extracción y se renovó el solvente cada 24 h hasta agotamiento. Simulando los ritos populares, se preparó un extracto acuoso aplicando el método de decocción (proporción 1:20, vegetal/solvente, 30 min). Con *Lippia alba* se trabajó con dos macerados metanólicos (proporción 1:20, vegetal/solvente), utilizando el material vegetal seco y triturado antes y después de extraer el aceite esencial. A partir de *Bauhinia kalbreyeri* se prepararon macerados etanólicos (proporción 1:20, vegetal/solvente) y una decocción con agua, bajo los mismos criterios y la misma metodología de *J. pectoralis*. Todos los extractos orgánicos y acuosos se concentraron a presión reducida en un rotavapor BÜCHI R114, hasta obtener un material viscoso, el cual se almacenó (4°C) en frascos ámbar apropiadamente rotulados hasta su utilización.

Actividad Antioxidante

Actividad antirradical.

Screening rápido

La capacidad de captación de radicales libres se estimó aplicando una prueba rápida de decoloración del DPPH (7), con algunas modificaciones. Alícuotas de 2L-10L, de los extractos se colocaron sobre respectivos pozuelos de una placa escavada de porcelana, en

cada uno se depositó 100µL de una solución de DPPH (0.1mM). Como control positivo se utilizaron 2L de ácido ascórbico (A.A.) e hidroxitolueno butilado (BHT) preparados ambos a una concentración de 0.1M. El progreso de la reacción se monitoreó cada minuto, hasta los 10 min. El grado de decoloración de la solución de DPPH (violeta a amarillo), es indicativo de la actividad antirradical de los constituyentes químicos del extracto.

Actividad captadora del radical DPPH.

Método fotométrico

La interacción de los constituyentes de las muestras con el radical libre DPPH, se evaluó aplicando el método descrito por Ohinishi (8), con algunas modificaciones. Se preparó una solución 0.1 mM de DPPH en metanol, 3 ml de esta solución se adicionó a 1 ml de los extractos vegetales (160 ppm). Después de 30 min de incubación a temperatura ambiente, se leyó la absorbancia a 517 nm. La actividad de los extractos se comparó con la de ácido gálico (A.G.), A.A. y BHT preparados a 10µg/ml y utilizados como estándares de referencia. Valores bajos en la absorbancia de la mezcla reaccionante son indicativo de una gran habilidad de captación del radical libre (CRL), expresada mediante la siguiente

fórmula:

$$\% \text{CRL} = \left[\frac{\text{ABSDPPH} - \text{ABSMUESTRA}}{\text{ABSDPPH}} \right] \times 100$$

Capacidad inhibitoria de H₂O₂

A los constituyentes químicos de los extractos vegetales se les midió la capacidad para inhabilitar el peróxido de hidrógeno, siguiendo el método descrito por Ruch, Cheng y Klauning (9), en el cual se preparó una solución de H₂O₂ en buffer fosfato (2mM, pH 7.4). La concentración de la solución se midió espectrofotométricamente a una longitud de onda de 230nm, utilizando una constante de absorptividad molar de 81 n⁻¹ L cm⁻¹ en agua destilada. A 3ml de cada uno de los extractos (160 ppm), se les agregó 1.8 ml de la solución de peróxido de hidrógeno, la absorbancia de la mezcla se leyó a la misma longitud de onda. La actividad de los extractos se contrastó con el AA, AG y rutina (15ppm) y se determinó mediante la ecuación:

$$\% \text{Sap} = \left[\frac{A_m}{A_b} \right] \times 100$$

Donde:

%Sap: Capacidad atrapadora de H₂O₂

A_m: absorbancia de la mezcla reaccionante

A_b: absorbancia del H₂O₂ más el buffer fosfato

Tamizaje fitoquímico

Con el fin de determinar los metabolitos secundarios presentes en los vegetales se realizó un barrido fitoquímico general, siguiendo la metodología sugerida por Sanabria (10), y Domínguez (11), modificada en algunas de sus partes por Murillo, (12).

Determinación del contenido de fenoles totales

El contenido de compuestos fenólicos totales en los extractos se cuantificó utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC), de acuerdo al procedimiento descrito por Singleton y Rossi (13). Un mililitro del extracto se aforó con agua hasta 100 ml; 1 ml de esta solución se mezcló con 2.5 ml del reactivo FC (diluido 1:1 con agua destilada) y con 2 ml de carbonato de sodio al 7.5%; la mezcla se calentó 10 minutos a 50 C, se dejó que alcanzara la temperatura ambiente y se leyó la absorbancia a 760nm contra un blanco de reactivos. Estos datos se utilizaron para estimar el contenido fenólico, utilizando una curva estándar obtenida a partir de varias concentraciones de ácido gálico. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de material seco (mgEAG/gs.)

Análisis estadístico

Todos los resultados son expresados como la media D.E. (n = 3). El análisis

de regresión lineal se efectuó para calcular la relación dosis-respuesta de las soluciones estándares y muestras analizadas. El grado de correlación entre las variables se expresó a través del coeficiente de correlación r_{xy}

Resultados y Discusion

Evaluación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los extractos orgánicos y acuosos de *L. alba*, *J. pectoralis* y *B. kalbreyeri* se evaluó determinando su potencial antirradical frente al DPPH y la capacidad para inhibir el peróxido de hidrógeno. La participación de los radicales libres en un número creciente de afecciones de gran interés médico-social, hace que el tema merezca especial atención. La molécula del 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH) está caracterizado como un radical libre estable, por lo que usualmente es utilizado como un reactivo para evaluar la actividad captadora de radicales libres de compuestos antioxidantes (14).

Por su parte, varios procesos biológicos crean o utilizan peróxido de hidrógeno; especie formadora del radical hidroxilo (OH^+) en una reacción catalizada por iones metálicos (Fe^{+2} o Cu), a su vez el

radical hidroxilo es altamente reactivo y puede atacar casi todas las moléculas biológicas (2).

Al probar los diferentes extractos de los tres vegetales en un estudio preliminar, fueron suficientes 5 minutos para que 10 L de cada uno de ellos provocara la decoloración total o parcial del DPPH, este tiempo fue menor que el ocupado por el ácido ascórbico (AA), pero mayor que el empleado por el del BHT, utilizados ambos como controles positivos. Los resultados corresponden a la media de tres determinaciones ($n=3$) \pm DS

Las observaciones hechas en este ensayo fueron la base para someter los extractos a la misma prueba, pero en forma cuantitativa aplicando un método fotométrico. Los resultados obtenidos al determinar la captación de radicales libres y el potencial inhibitorio del HO de los extractos y ²² de los estándares (AA, AG y BHT), aparecen relacionados en la tabla 1.

Todos las muestras evidencian un habilidad reductora del DPPH superior o igual al 75%, los extractos y estándares siguieron el siguiente: AA (99.21%)> BHT (97.97%)> AG (96.83%)> BAHM (96.36%)> LMDEAE (95.97%)> LMAEE (95.74%)> BEC (95.04%)> BAHD (94.62%)> JET (93.56%)> JAC (88.02%)> JAEt (87.76%)> BEH (86.42%)> BACD (80.28%)> BACM (75.05%). Como se observa los tres primeros extractos referenciados (BAHM, LMDEAE y LMAEE) revelaron una CRL comparable a la del ácido gálico (AG, patrón); no obstante, debe tenerse presente que la concentración de los extractos fue 16 veces más grande que la de los estándares.

Pese a que *B. kalbreyeri* mostró el extracto más activo (BAHM), reveló también el de menor potencial (BACM). En ella, los extractos acuosos obtenidos a partir de las hojas dejaron ver valores más altos que los de corteza, lo contrario sucedió con los etanólicos. Por su parte, *J. pectoralis*

Tabla 1. Habilidad captadora de radicales libres (CRL) y potencial inhibitorio del H₂O₂ de extractos orgánicos y acuosos de *L. alba*, *J. pectoralis*, *B. kalbreyeri* y de los estándares.

Vegetal	EXTRACTO	CRL (%)	Inhibición del H ₂ O ₂ (%)
<i>Lippia alba</i>	Metanólico antes de extraer el aceite esencial (LMAEAE)	95.74 \pm 0.17	53.39 \pm 0.63
	Metanólico después de extraer el aceite esencial (LMDEAE)	95.97 \pm 0.13	55.72 \pm 1.25

<i>Justicia pectoralis</i>	Etanólico (JET)	93.56±0.01	57.84±1.24
	Acuoso (JAC)	88.02±0.59	67.52± 1.03
	Acetato de etilo (JAEt)	87.76±0.46	56.09 ± 0.49
<i>Bauhinia kalbreyeri</i>	Acuoso de hoja-maceración (BAHM)	96.36±0.24	72.58±1.32
	Acuoso de corteza-maceración (BACM)	75.05±0.31	24.19±1.64
	Acuoso de hoja-decocción (BAHD)	94.62±0.42	35.48±1.10
	Acuoso de corteza-decocción (BACD)	80.28±0.40	16.12±1.15
	Etanólico de hoja (BEH)	86.42±0.12	79.3±1.10
	Etanólico de corteza (BEC)	95.04±0.10	56.45±1.20
Acido ascórbico	AA	99.21±0.01	47.15 ± 1.34
Acidogálico	AG	96.83±0.02	59.87 ± 1.43
Hidroxitolueno butilado	BHT	97.97±0.01	40.13 ± 1.30

Los resultados corresponden a la media de tres determinaciones (n=3) ± DS

dejó ver una actividad similar con agua y con acetato de etilo, y en lo que tiene que ver con *L. alba*, no parece afectarle la extracción del aceite esencial.

De acuerdo a lo observado, los antioxidantes de los tres vegetales podrían clasificarse como de tipo secundario, dado que se observa una gran habilidad para captar radicales libres; de esta forma evitarían la reacción en cadena de estas entidades químicas, y su potencial antirradical lograría entonces compararse a la de moléculas universalmente reconocidas con esta actividad, por ejemplo vitamina E o alfa-tocoferol, vitamina C o ácido ascórbico, beta-caroteno, ácido úrico, metionina, entre

otros (15).

Por otra parte, es notorio que nueve de los once extractos fueron capaces de inhibir al peróxido de hidrógeno, en una acción comparable a los patrones. Fueron excepción, los extractos acuosos de *B. kalbreyeri* obtenidos por maceración y decocción a partir de la corteza (BACM y BACD, respectivamente). De nuevo, *L. alba* no se ve afectada por la extracción de sus volátiles (aceite esencial), y *J. pectoralis* muestra una secuencia en su actividad concordante con la polaridad del solvente: JAC (67.52%) > JET (57.84%) > JEt (56.09%). Como en el caso de la CRL, *B. kalbreyeri* deja ver el extracto más

activo (BAHM, 72.58%) y el de menor potencial entre todos los extractos (BACD, 16.12%). Importa mencionar que el macerado acuoso de hoja de *B. kalbreyeri* muestra la mayor actividad antioxidante, manifestada a través de su habilidad para capturar radicales libres y de su potencial para inhibir el peróxido de hidrógeno.

Cabe mencionar que las dietas ricas en polifenoles resultan efectivas como un mecanismo protector frente a la citotoxicidad inducida por el peróxido de hidrógeno, originada por las peroxisomas del citosol ricas en oxidasas (16), a lo que debería adicionarse su capacidad para generar el radical hidroxilo, entidad altamente reactiva y atacante de casi todas las moléculas biológicas (2). Bajo estas consideraciones es posible asumir a los antioxidantes de los vegetales bajo estudio como de tipo uno, entendiéndose como tal que son capaces de prevenir la formación de nuevos radicales libres evitando su formación por inhibición del HO₂ (17).

Dado que los mecanismos de acción de los antioxidantes son diversos y dependientes de factores intrínsecos como estructura, características de solubilidad, número y posición de los sustituyentes, entre otros (18), así como también de parámetros extrínsecos como naturaleza del prooxidante, potencial reductor del mismo, tipo de prueba a la que es

sometido, etc., se justifica el uso de un conjunto de ensayos de laboratorio (in Vitro e in Vivo) a fin de estimar la acción antioxidante de un producto vegetal llámese compuesto puro, extracto, aceite esencial o bien la planta completa.

Tamizaje fitoquímico

La diversidad de compuestos químicos y características biológicas de las plantas medicinales depende de factores como área de cultivo, condiciones climáticas, fase de vegetación, modificaciones genéticas entre otros, todo lo cual impulsa a realizar estudios de la flora presente en diferentes sitios geográficos. Para realizar el análisis fitoquímico preliminar aplicado a los tres vegetales se escogió como modelo el macerado etanólico, teniendo en cuenta su polaridad intermedia entre el agua y el acetato de etilo. El estudio permitió determinar compuestos fenólicos tipo taninos, flavonoides y cumarinas, así como también lactonas y metabolitos de naturaleza terpénica o esteroideal. Particularmente, *L. alba* y *J. pectoralis*, arrojaron resultados positivos para quinonas. En *B. kalbreyeri* no se detectó presencia de saponinas, lo que si se observó para *L. alba* y *J. pectoralis*, pero a diferencia de estas dos se encontró en ella alcaloides. En ningún caso se observó presencia de glicósidos cardiacos.

Fundamentados en estudios sobre la

química de algunas plantas, muchos autores sostienen que la actividad antioxidante de algunos extractos es debida, al menos en parte, a la presencia de sustancias de naturaleza fenólica, actividad que también ha sido observada en alcaloides y en algunos terpenoides (19, 20). Por otra parte, las plantas tienen una casi ilimitada habilidad para sintetizar sustancias aromáticas, las cuales han sido evaluadas por su potencial terapéutico; estos compuestos incluyen alcaloides, cumarinas, saponinas y flavonoides (21, 22). Todos estos componentes fueron encontrados en los vegetales bajo estudio, aunque en diferentes proporciones.

Adicionalmente, los beneficios terapéuticos de las plantas medicinales son siempre atribuidos a sus propiedades antioxidantes, y estas a su vez asociadas a los polifenoles encontrados en las células de las plantas verdes (23). Las plantas tienden a exhibir una gran variación de compuestos aromáticos, como consecuencia de las diferencias ambientales y genéticas(24).

Contenido fenólico total

La figura 1 ilustra los resultados obtenidos en la cuantificación de los fenoles totales contenidos en los extractos de *L. alba*, *J. pectoralis* y *B. kalbreyeri*, calculados a partir de la ecuación de regresión de la curva de

calibración: $y = 5.94 \times 10^{-3} \chi + 0.0585$
 $r^2 = 0,9996$, expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de material vegetal seco (EAG/g).

Teniendo en cuenta la totalidad de los extractos, se puede afirmar que los acuosos de hojas y corteza de *B. kalbreyeri*, preparados por decocción, revelan los mayores contenidos fenólicos, seguidos por los macerados acuosos de *J. pectoralis* y los de *B. kalbreyeri*, en tanto que los etanólicos o metanólicos de los tres vegetales muestran concentraciones similares; el extracto de *J. pectoralis* preparado con acetato de etilo (JAEt) presentó el menor valor entre todos los tratamientos.

Para el caso particular de *L. alba*, se pudo observar una correlación directa entre el contenido fenólico y la habilidad captadora de radicales libres (tabla 1), a lo que pudiera estar contribuyendo la extracción del aceite esencial; tal situación no fue tan evidente en *J. pectoralis*, ya que el extracto acuoso (JAC) mostró un contenido fenólico superior al del etanólico (JET), sin embargo las CRL resultaron opuestas. En lo que tiene que ver con *B. kalbreyeri*, la relación en cuestión fue baja ($r = 0.23$), dando a entender que la funcionalidad de esta planta como captadora de radicales libres no depende exclusivamente de sus constituyentes fenólicos, sino posiblemente del conjunto de

metabolitos que posee.

Pese a todo, la literatura pertinente a esta investigación indica que los compuestos fenólicos son uno de los mayores grupos de entidades químicas que actúan como antioxidantes primarios o eliminadores de radicales libres. Los principales fitofenoles son flavonoides, flavonas, isoflavonas, flavonoles, derivados de la cumarina, ácido cinámico y antocianidinas. La actividad antioxidante de todos ellos puede calificarse desde leve a muy fuerte, y su modo de acción puede estar relacionado con alguna o varias de las siguientes acciones: captación de radicales libres, agentes reductores, formación de complejos con metales prooxidantes o inhibición de la formación de oxígeno singlete. La mezcla de estas especies químicas puede evidenciarse en forma sinérgica con las vitaminas, funcionando como protectores y regeneradores de los antioxidantes (25).

Partiendo del hecho que el H_2O_2 es

formador del radical hidroxilo, en una reacción catalizada por iones metálicos (Fe^{+2} o Cu^{+}), y que a su vez este radical es una especie altamente reactiva que ataca casi todas las moléculas biológicas, resulta de particular importancia evaluar la capacidad de los constituyentes químicos de un vegetal para inhibir el peróxido de hidrógeno, como una buena medida del potencial antioxidante. A los fitofenoles se les ha encontrado también efecto protector sobre células bacterianas y mamíferas frente a la citotoxicidad inducida por el peróxido de hidrógeno, especialmente aquellos con grupos hidroxilos en posición orto en su estructura, tal es el caso de la quercetina, catequina, ésteres del ácido gálico y del cafeico. (26, 27) todo lo cual induce a proponer a los tres vegetales estudiados no sólo como especies defensoras frente a los prooxidantes sino además con funcionalidad antibacteriana.

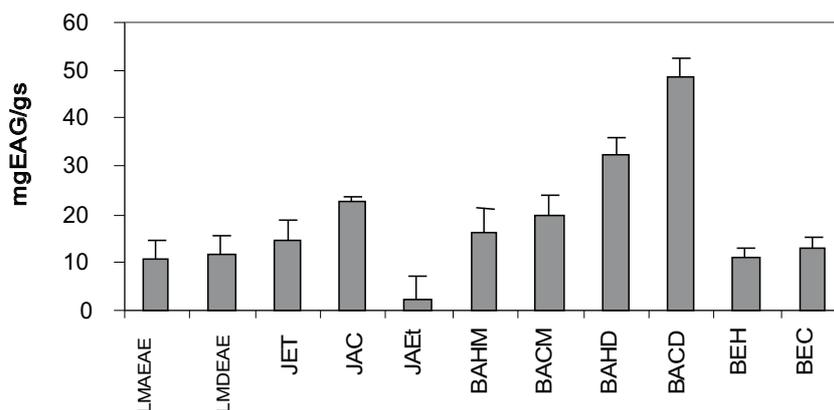


Figura 1. Contenido fenólico total de los extractos de *L. alba*, *J. pectoralis* y *B. kalbreyeri*.

Conclusiones y Perspectivas

El uso etnofarmacológico de *Lippia alba*, *Justicia pectoralis* y *Bauhinia kalbreyeri* encuentra respaldo en las propiedades funcionales evidenciadas a través de los estudios científicos realizados. En este contexto, algunos efectos biológicos o farmacológicos como antiinflamatorios, antibacterianos y especialmente antidiabéticos, relatados en la literatura, justifican la aplicabilidad de estas especies en la herbolaria tolimense y explican en parte los nombres vulgares con las que se les conoce: sanalotodo (*L. alba*), amansatoros (*J. pectoralis*) y casco de vaca (*B. kalbreyeri*). No obstante, resulta de particular importancia aislar, identificar y probar biológicamente los compuestos químicos detectados en ellas: flavonoides, terpenos/esteroides, alcaloides, taninos, cumarinas, quinonas, con el propósito de dar explicación precisa de los efectos biológicos observados.

Cabe resaltar, que la acción de la mayoría de los compuestos con actividad hipoglicémica no ha sido esclarecida en su totalidad, en tal forma que realizar estudios en este sentido contribuiría en gran manera al descubrimiento de fitofármacos para el tratamiento de la diabetes tipo II, patología que aflige un gran número de personas en todo el mundo.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias al

aporte económico de la Oficina de Investigaciones y al soporte técnico del Departamento de Química de la Universidad del Tolima.

Bibliografía

1. Karou D, Dicko M. H., Simpore J., and Traore A.S. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology* 2005; 4 (8): 823-828
2. Rodríguez J.M., Menéndez J.R. y Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev. Cubana Med Milit* 2001; 30 (1): 36-44.
3. Halliwell B, Gutteridge J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine* 1999. 3 ed. Oxford Science Publications. Cragg, G. M.; Newman, D.J.; Snader, K.M. (1997). *J. Nat. Prod.*, 60, 52.
4. Javanmardi J, Stushnoff C, Locke E, Vivanco J. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry* 2003; 83: 547-550.
5. Cano A., Arnao M.B. Actividad antioxidante hidrofílica y lipofílica y contenido en vitamina C de zumos de naranja comerciales: relación con sus características organolépticas. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 2004; 4(003): 185-189.6. Perez T.G. Los
6. Perez T.G. Los Flavonoides:

- antioxidantes o prooxidantes. *Rev Cubana Invest Biomed.* 2003; 22: 48-57.
7. Huang Dong-Jiann, CHEN Hsien-Jung, LIN, Chun-Der y LIN Yaw-Huei. Antioxidant and antiproliferative activities of water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk) constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 2005; 46: 99-106.
8. Ohinishi M. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and haemolysis, citado por Miceli, N. et al. Anti-inflammatory activity of extract and fractions from *Nepeta sibthorpii* Benth. *Journal of Ethnopharmacology* 2005; 97 (2): 261-266.
9. Ruch R.J., Cheng S.J., Klauning J.E. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis* 1989; 10: 1003-1008.
10. Sanabria G. A. Análisis fitoquímico preliminar: metodología y su aplicación en la evaluación de cuarenta plantas de la familia Compositae. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. Santafé de Bogota 1983.
11. Dominguez X.A. Métodos de investigación fitoquímica. Centro regional de ayuda técnica: Mexico/Buenos Aires. 1973.
12. Murillo P.E. Guía metodológica para la investigación fitoquímica preliminar en plantas medicinales. Universidad del Tolima. 2004.
13. Singleton and Rossi, J.A. Colorimetry of total phenols with phospho molybdic phosphotungstic acid reagents, citado por Mathew, Sindhu and Abraham, Emilia. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food and Chemical Toxicology* 2006; 44: 198-206.
14. Mathew S. y Abraham E. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food and Chemical Toxicology* 2006; 44: 198-206.
15. Oyaizu M. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition* 1986; 44: 307-315.
16. Ferrer D.V., Jorge C.F., Cutiño I.C., Ramón E.G.R., Arce L.G. Radicales libres y su papel en la homeostasia neuronal. *MEDISAN* 1999; 3 (3) : 5 - 11 .
17. Ferrer V.D., Jorge F.C., Cutido C.I., García R.R., Arce G.D. Radicales libres y su papel en la homeostasia neuronal. *MEDISAN* 1999; 3(3): 5-11.
18. Grover J.K., Yadav S. y Vats V. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. J.

- Ethnopharmacology 2002, 81(1):81-100.
19. Son S. y Lewis B.A. Free radical scavenging and antioxidant activity of caffeic acid amide and ester analogues: structure-activity relationship. *J. Agricult. Food Chem* 2002. 50 (3): 468-472.
20. Soobrattee M.A., Neergheen V.S., Luximon-Ramma A. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation Research* 2005; 579: 200-213
21. Ng T.B., Liu F. and Wang Z.T. Antioxidative activity of natural products from plants. *Lif Sciences* 2000; 66(8): 709-723.
22. Rice-Evans C. Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism and activity *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 827-828.
23. Azaizeh H., Ljubuncic P., Portnaya I., Said O., Cogan U. and Bomzon A. Fertilization-Induced changes in growth parameters and antioxidant activity of medicinal plants used in traditional arab medicine. *Oxford Journals* 2005; 2 (4): 549-559.
24. Olguín C.G., Meléndez G.M., Zúñiga A.R., Pasquetti C.A. Antioxidantes y aterosclerosis. *Revista de Endocrinología y Nutrición* 2004; 12 (4): 199-206. 25. Nakayama, T., Yamaden, M., Osawa, T., Kawakishi, S., Suppression of active oxygen-induced cytotoxicity by flavonoids. *Biochemical Pharmacology* 1993; 45: 265-267.
26. Nakayama, T. Suppression of hydroperoxide-induced cytotoxicity by polyphenols. *Cancer Research* 1994; 54: 1991-1993.
27. Kumaran A, Karunakaran R.J. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT* 2007; 40: 344-352.