

Actividad biológica y caracterización química de los extractos de las hojas y corteza de *Rhizophora mangle* L.

Nereida Marroquín*, Sully M. Cruz.

Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (Lipronat),
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

*Autor al que se dirige la correspondencia: nmarroquin@gmail.com

Recibido: / Revisión: / Aceptado:

Resumen

La corteza de *Rhizophora mangle* L., mangle rojo, ha sido utilizado tradicionalmente por sus propiedades como antiséptico, astringente y hemostático, se ha descrito la presencia de polifenoles como flavonoides y taninos, a los cuales se les ha relacionado con su acción antioxidante y cicatrizante demostrada en diferentes estudios; por su parte las hojas han presentado taninos y actividad antioxidante muy similar, y en ocasiones superior, a la reportada para la corteza. En este estudio se determinó la cantidad de taninos, flavonoides, actividad antioxidante y antibacteriana de cinco extractos etanólicos de hoja y corteza de mangle rojo, colectado en cinco transectos de la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico Santa Rosa, Guatemala; se analizaron los datos con base en los promedios y desviaciones estándar de cada uno de los parámetros evaluados. En los extractos de hojas se determinó un 15.91±8.56% de taninos, 315.19±90.83ppm de flavonoides, actividad antioxidante a una concentración inhibitoria media (CI₅₀) de 0.435±0.315mg/mL, 125.44±65.05µg de ácido gálico/g de extracto y actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 14990 y *S. epidermidis* aislada de herida con una concentración mínima inhibitoria (CIM) de 1 mg/mL; siendo estos datos similares a los de corteza. Se obtuvo un coeficiente de correlación de -.79, entre la cantidad de taninos y actividad antioxidante (p < .001); lo cual relaciona su composición química con su posible efecto cicatrizante, por lo que los extractos de hoja pueden constituir una alternativa viable para el desarrollo de productos naturales.

Palabras claves: Cicatrizante, antioxidante, antibacteriano, hoja.

Abstract

The *Rhizophora mangle* L. cortex, red mangrove, has a traditional use due to its antiseptic, astringent and hemostatic properties; it has been described the content of polyphenols mainly as flavonoids and tannins, with antioxidant and wound healing properties, demonstrated in various studies, meanwhile the leaf presents tannins and similar antioxidant activity, sometimes, superior to the cortex activity. In this study, the amount of tannins, flavonoids, antioxidant and antibacterial activity of five ethanol extracts of leaf and cortex of red mangrove were determined; the samples were collected in the nature reserve multipurpose Monterrico, Santa Rosa, Guatemala; the data was analyzed based on the averages and standard deviations of each of the parameters evaluated. In leaf extracts were quantified 15.91±8.56% of tannins, flavonoids 315.19±90.83 ppm, antioxidant activity of IC₅₀ 0.435±0.315mg/mL, total phenols of 125.44±65.05 µg gallic acid/ g of extract and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 14990 and *S. salvaje* with a MIC of 1 mg/mL, being comparables as those of the cortex. A correlation of -.79 was obtained, between the amount of tannins and antioxidant activity (p < .001); relating the results to a possible biological wound healing effects, consequently the leaf extracts can become a viable option to the development of medicinal natural products.

Keywords: Healing, antioxidant, antibacterial leaf.



Introducción

Guatemala cuenta con un potencial del 1% de su territorio con condiciones para albergar bosques de manglar. Estos bosques en la actualidad representan el 0.5% de la cobertura forestal nacional, distribuidos en 14,500 hectáreas en el litoral del Pacífico y 704 hectáreas en el Atlántico, debido a su fragilidad y a la manera descontrolada en la que se ha venido explotando este recurso se hace necesario normar y fomentar su conservación, recuperación y aprovechamiento sostenible. Según algunas estimaciones, se han perdido 9,540 ha de manglar en el pacífico guatemalteco (Rodas, 1990).

Los manglares han sido definidos como asociaciones vegetales anfibias, leñosas, perennifolias, presentes en forma discontinua en la zona influenciada por las mareas de las costas tropicales. El ecosistema de manglar reviste una gran importancia ecológica y económica, actuando como la primera barrera ecológica, además de representar un refugio idóneo para una gran variedad de especies de fauna y constituir el hábitat natural de numerosas especies tanto terrestres como marinas. (Herrera, 1986; Menéndez, 1994; Rodríguez, 1997).

En Guatemala se registran cinco especies de mangle, *Rhizophora mangle*, mangle rojo; *Rhizophora rrisonii*, mangle negro o ixtatén; *Avicenia germinans*, mangle blanco; *Laguncularia racemosa*, el botoncillo, y *Conocarpus erecta*. El mangle rojo, es de especial interés por ser una especie pionera en la sucesión vegetal de zonas intermareales de lagunas costeras y esteros con influencia de agua salada. Crece progresivamente hacia el mar, y permite que en las partes internas de la franja de manglar, se desarrollen los mangles negro y blanco (Arrecis, 1992).

La Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico se localiza al sureste de la República de Guatemala sobre la franja costera del Pacífico entre los municipios de Taxisco y Chiquimulilla del departamento de Santa Rosa, presenta el mayor desarrollo de bosques de manglar, (Sigüenza & Ruiz, 1999). Una amplia variedad de productos forestales se obtienen de los manglares, especialmente madera para combustible y construcción, taninos y medicinas (Walters, 2008).

Las especies del manglar presentan metabolitos activos con estructuras químicas muy diversas como alcaloides, fenoles, esteroides, terpenoides, taninos, etc. Las investigaciones recientes se han enfocado en evaluar la actividad biológica de los extractos, los cuales han reportado actividad antimicrobiana, antiviral, antioxidante, citotóxica y muchas otras propiedades

demostradas como antiproliferativa, insecticida, antimalárica, depresora del sistema nervioso central, estimulante de fibroblastos etc., lo que ha llevado a crear conciencia de la importancia de los manglares como fuente de nuevos medicamentos, agroquímicos y de muchos compuestos biológicamente activos (Adetutu, 2011; Bandaranayake, 2002; Patra, 2011).

Existen diferentes estudios científicos sobre la evaluación de la actividad farmacológica de *R. mangle* específicamente de la corteza donde se demuestra un efecto antihiper glucémico (Castro, 2014). El extracto acuoso de la corteza ha demostrado utilidad para el tratamiento de la mastitis bovina, la curación de heridas, infecciones uterinas y úlceras gastroduodenales; debido a sus propiedades antiséptica, cicatrizante, antiinflamatoria y antioxidante. Además, ha presentado una acción captadora de radicales hidroxilo así como la habilidad de quelar iones de hierro; también ha disminuido el daño oxidativo en las moléculas de ADN (Castro, 2014; Sánchez, Martínez & Faure 2011). Estudios han demostrado el efecto protector de la mucosa gástrica de una fracción butanólica de corteza (de-Farla, 2012). Estudios preclínicos de toxicidad aguda del extracto acuoso de corteza a dosis única, han determinado que la dosis tóxica del extracto es superior a 2,000 mg/kg y no es tóxico a dosis repetida en la dosis máxima terapéutica en un período de 14 días, por lo que se garantiza un amplio margen de seguridad (Sánchez, Chávez, Macebo & Lorenzo, 2008). Se evaluó una formulación semi-sólida de extracto acuoso de mangle, determinando el comportamiento reológico y extensión, observándose estabilidad de los componentes (Pérez, 2011).

Muchas especies vegetales contienen metabolitos secundarios, como los taninos, que presentan un efecto astringente, los cuales impermeabilizan las capas más externas de la piel y mucosas, protegiendo así las capas subyacentes; además del efecto vasoconstrictor sobre pequeños vasos superficiales por lo que favorecen la regeneración de los tejidos en caso de heridas superficiales o quemaduras (Adetutu, 2011). Es por ello que al evaluar la cantidad de taninos, actividad antioxidante y antibacteriana en los diferentes órganos de la planta se puede determinar su utilidad en la terapéutica cicatrizante (de-Farla, 2012). Existen numerosos estudios sobre la actividad biológica de la corteza, pero no se evidencia suficiente información que demuestre la actividad biológica o su posible uso a nivel de la industria de la hoja de *R. mangle*.

La comparación de la actividad farmacológica y composición química de los órganos de una sola espe-

cie, es de mucha importancia ya que permite determinar qué órgano presenta la mejor actividad farmacológica o determinar si son comparables, con el fin de disminuir la extracción de madera. En esta investigación se evaluó la actividad antioxidante y antibacteriana de los extractos etanólicos de hoja y corteza de mangle, obtenidas de la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico, Santa Rosa, Guatemala, para determinar el posible uso de la hoja en productos fitocosméticos para cicatrización.

Materiales y Métodos

Universo de trabajo: hojas y corteza de mangle rojo (*R. mangle*) recolectados en la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico, Chiquimulilla Santa Rosa. El muestreo se realizó en cinco transectos de la reserva seleccionados a conveniencia.

De las muestras recolectadas se obtuvieron 5 extractos etanólicos al 50% de hoja y 5 extractos etanólicos al 50% de corteza de mangle rojo, por medio de percolación y concentración a presión reducida en rotavapor seguido de desecación en desecador con sílica gel.

Cuantificación de taninos por tungsto-molibdico-fosfórico

Se pesó 0.5 g de extracto, disolviéndose en 250 mL de etanol al 50% con agitación durante 1 h, y reposo 1 h, se agitó nuevamente por 3 min, para posteriormente filtrar. Se transfirieron 3 mL del filtrado a un matraz aforado de 50 mL y se diluyeron con agua destilada hasta enrase (solución madre). Patrón con 1.5 mL de solución de referencia de taninos y 1 mL de agua destilada; muestra con 0.5 de solución madre y 2 mL de agua destilada. A todos se les agregó 1 mL de reactivos para taninos, reposar por 5 min, se agregó 0.5 mL de carbonato de sodio al 20%, se aforó con agua a 25 mL. Se realizó la lectura de cada muestra a 700 nm. La expresión para los cálculos se hizo con la siguiente fórmula: $X = (A_m * P * 1000 * 100) / (A_p * PM * (100-p))$. Donde X es el contenido de taninos en la droga (%), P la masa de la sustancia de referencia (g), A_m la absorbancia de la muestra (nm), A_p es absorbancia de la solución de referencia (nm), PM la masa de la droga (g) y p: humedad de la droga (%) (Cruz, 2013; Gutiérrez, 2000).

Cuantificación de flavonoides con base en ácido clorogénico

Se pesó 0.1 g de extracto de muestra y se agregaron 50 mL de agua caliente. Las muestras se colocaron en un baño de María por 60 min. Se enfrió a temperatura ambiente, se aforó con agua destilada. Se filtró y diluyó el filtrado 10 veces, se midió la absorbancia a 324 nm. Se construyó una curva de ácido clorogénico, con base en la ecuación de la recta se determinó la concentración de flavonoides expresados como ácido clorogénico (Solís, 2005).

Evaluación de la actividad antioxidante

Determinación de la actividad antioxidante por cromatografía en capa fina (Vogel, 2005). la muestra se preparó pesando 0.1 g de extracto disolviéndolo en 5 mL de metanol. Se aplicó 10 μ L de muestra y 5 μ L del estándar antioxidante ter-butil-hidroquinona (TBHQ), rutina, quercetina, vitamina C, vitamina E y Trolox en la cromatoplaca de silicagel 60F₂₅₄. Empleando como fase móvil acetato de etilo-ácido acético-ácido fórmico-agua (100:11:11:26). Revelando con 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) a una concentración de 1 mg/mL en metanol, recién preparado protegido de la luz.

Actividad antioxidante por técnica micrométrica de DPPH (Sharma & Bhat, 2009; Yang, 2008). Se pesaron 20 mg de extracto seco disuelto en 1 mL de metanol absoluto, se preparó una serie de diluciones de concentración de 4, 8, 12, 16 y 20 mg/mL. Se empleó una solución de DPPH 150 μ M (1.7mg/25mL de metanol). En una microplaca de 96 pozos de fondo plano se prepararon cinco repeticiones por dilución con 20 μ L de muestra y 200 μ L de DPPH; el blanco de cada muestra se le agregan 20 μ L de muestra y 200 μ L de metanol; el pozo de control 20 μ L de metanol y 200 μ L de DPPH y el blanco del control 220 μ L de metanol. Se dejó la placa en reposo protegida de la luz por 30 min, se leyó en un lector de microplacas marca Biotek® modelo ELX800 a una longitud de onda de 490 nm.

$\% \text{ de inhibición} = ((\text{Abs control} - \text{Abs Mx}) / \text{Abs control}) * 100$

Con base en la ecuación de regresión lineal del porcentaje de inhibición en función de la concentración, se determinó la CI_{50} .

Cuantificación de fenoles totales por técnica micrométrica (Álvarez et al, 2008). Para la cuantificación se elaboró una curva de ácido gálico con las siguientes concentraciones 50, 250, 450, 650, 850, 1,050 y 1,250 μM en etanol. Se pesó 0.1 g de extracto y se disolvió en 5 mL de metanol, se preparó una dilución del mismo, de la cual se esperaba presentara una absorbancia que estuviera dentro de las absorbancias obtenidas en la curva del ácido gálico. En microplacas de 96 pozos fondo plano se prepararon los pozos con 25 μL de muestra o dilución de ácido gálico o agua destilada, 50 μL de reactivo de Folin y 200 μL de carbonato de sodio al 2%. Se dejó reposar por 2 h y se leyó en lector de microplaca Biotek® modelo ELX800 a una longitud de onda de 630 nm. El resultado se reportó como μg de ácido gálico en gramo de extracto.

Evaluación de actividad antimicrobiana

Tamizaje antimicrobiano mediante técnica de agar planta (NLCCS, 2009). Para el tamizaje se emplearon cajas de Petri con agar planta a una concentración de 1 mg/mL en agar Mueller Hinton. Se emplearon bacterias con 24 h de activación en agar tripticasa soya, haciendo una resiembra en caldo tripticasa soya; empleando para la prueba una dilución de 50 μL de bacteria en caldo tripticasa soya en 4.95 mL de solución salina estéril. Las bacterias utilizadas fueron *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus epidermidis* ATCC 14990 y *S. epidermidis* aislada de herida de paciente hospitalario, se distribuyeron de forma aleatoria en cada una de las placas de agar planta a evaluar, después de 24 h de incubación a 37°C se interpretaron resultados, considerando actividad cuando no se observa crecimiento de las bacterias.

Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) de la actividad antimicrobiana por técnica de microdilución (NLCCS, 2009). Se trabajaron diluciones seriadas de extracto a partir de una solución madre con concentración de 0.1 g de extracto en 10 mL de buffer de fosfato. La bacteria se preparó en caldo Mueller Hinton a una concentración de 0.5 según la escala de McFarland. Empleando el reactivo de MTT (0.4 mg/mL), para determinación de la viabilidad bacteriana.

Diseño experimental

Se realizó un muestreo a conveniencia, en 5 transectos de la reserva, tomándose 1 muestra de hojas y 1 de corteza de mangle rojo, en cada transecto. Para la cuantificación de flavonoides y taninos, se analizaron las cinco muestras de los extractos etanólicos de hoja y cinco corteza de mangle; se realizó el análisis descriptivo con las medias aritméticas y desviación estándar. La evaluación de la actividad antioxidante se realizó por medio de análisis de regresión lineal para determinar la CI_{50} , evaluándose descriptivamente la diferencia de actividad entre los extractos etanólicos de hoja y corteza de mangle; todas las mediciones de cada extracto se corrieron por quintuplicado. Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre la cantidad de taninos, flavonoides y actividad antioxidante. La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó con seis repeticiones con una prueba hipótesis binomial para determinar si había actividad a un nivel de significancia de .05 y análisis descriptivo en la concentración inhibitoria mínima.

Resultados

En la Tabla 1 se presentan los promedios de la cuantificación de flavonoides y taninos de cada uno de los extractos. Se observan diferencias entre los promedios de cada uno de los puntos de colecta; los extractos de hoja presentan en promedio una mayor cantidad de flavonoides, mientras que los de corteza de taninos.

En la Tabla 2 se presentan los datos de la evaluación de la actividad antioxidante mediante pruebas cualitativas (CCF), mostrándose buena actividad en cada uno de los puntos. Con base en las medias y desviación estándar del valor de CI_{50} , el resultado más bajo para la hoja lo presenta el punto 2, así como el valor más alto de compuestos fenólicos; no supera los valores reportados a los estándares pero están muy cercanos. Al comparar los resultados de actividad antioxidante de los extractos etanólicos de hoja y corteza de mangle rojo, se observan medias muy similares de actividad antioxidante entre ambos órganos. El análisis de correlación mostró relación entre el porcentaje de taninos y la actividad antioxidante, con un coeficiente de -0.79 ($p < .001$).

En la Tabla 3 se observa la actividad antibacteriana de los extractos cuya evaluación inicial de actividad antibacteriana se trabajó con seis repeticiones con prueba de hipótesis binomial, la cual mostró actividad significativa ($p = .0156$); determinándose que para la inhibición del crecimiento de *E. coli* 8739 y *P. aeru-*

Tabla 1

Cuantificación de polifenoles en extractos etanólicos de hoja y corteza de R. mangle.

Muestra	Sitios de colecta dentro de la reserva	Porcentaje de Taninos (%)	ppm de flavonoides expresados como ácido clorogénico
Hoja	1	17.17 ± 1.27	407.74 ± 2.72
	2	29.28 ± 2.79	153.10 ± 2.64
	3	16.14 ± 1.04	515.03 ± 2.23
	4	13.12 ± 1.20	333.24 ± 2.45
	5	3.85 ± 0.44	166.82 ± 1.03
Promedio general		15.91 ± 8.56	315.19 ± 90.83
Corteza	1	23.19 ± 0.88	412.07 ± 3.66
	2	26.83 ± 0.45	196.87 ± 3.46
	3	25.51 ± 1.08	181.44 ± 2.69
	4	31.57 ± 2.56	215.83 ± 3.55
	5	25.99 ± 4.71	179.15 ± 4.02
Promedio general		26.62 ± 3.54	237.07 ± 91.63

Tabla 2

Evaluación de la actividad antioxidante de extractos etanólicos de R. mangle.

Muestra	Sitios de colecta dentro de la reserva	Cromatografía en capa fina DPPH	CI ₅₀ DPPH (mg/mL)	Fenoles Totales (µg ácido gálico/g extracto)
Hoja	1	++++(**)	0.245 ± 0.011	134.97 ± 3.92
	2	++++	0.180 ± 0.011	227.76 ± 6.36
	3	++++	0.292 ± 0.016	134.49 ± 3.45
	4	+++	0.432 ± 0.014	98.87 ± 2.53
	5	++	1.027 ± 0.066	31.09 ± 0.80
Promedio general			0.435 ± 0.315	125.44 ± 65.05
Corteza	1	++++	0.268 ± 0.013	134.53 ± 3.76
	2	++++	0.248 ± 0.011	165.94 ± 4.59
	3	++++	0.320 ± 0.016	113.25 ± 2.89
	4	++++	0.248 ± 0.027	150.43 ± 3.85
	5	++++	0.362 ± 0.032	110.08 ± 2.81
Promedio general			0.289 ± 0.050	134.85 ± 22.09
Vitamina C	Estándares	++++	0.0896 ± 0.011	
Rutina		++++	0.1671 ± 0.01	
Quercetina		++++	0.0749 ± 0.0004	
TBHQ*		++++	0.1147 ± 0.01	
Trolox		++++	0.1180 ± 0.001	-----

Nota. * Ter-butil hidroxi quinona. ** (- : ausencia de actividad, ++ moderada actividad, +++ buena actividad). Coeficiente de correlación entre IC50 y fenoles totales -0.83 (p < 0.0001); taninos con actividad antioxidante presentó un coeficiente de -0.79 (p < 0.0001); coeficiente de correlación entre taninos y flavonoides fue de -0.29 (p < 0.0001)

Tabla 3

Concentración inhibitoria mínima (CIM) de extractos etanólicos de *R. mangle* (mg/mL)

Muestra	Puntos	<i>E. coli</i> 8739	<i>P. aeruginosa</i> 9027	<i>S. aureus</i> 6538	<i>S. epidermidis</i> 14990	<i>S. epidermidis</i> aislada de herida
Hoja	1	> 1	> 1	> 1	1	1
	2	> 1	> 1	1	1	1
	3	> 1	> 1	> 1	1	1
	4	> 1	> 1	> 1	1	1
	5	> 1	> 1	> 1	> 1	> 1
Corteza	1	> 1	> 1	1	1	1
	2	> 1	> 1	> 1	1	1
	3	> 1	> 1	1	1	1
	4	> 1	> 1	1	1	1
	5	> 1	> 1	> 1	1	1

Nota. Hubo inhibición significativa ($p=0.0156$)

ginosa 9027 se requiere concentraciones de extracto por arriba de 1mg/mL; mientras que la mayoría de las muestras inhibieron el crecimiento de *S. aureus* 6538, *S. epidermidis* 14990 y *S. epidermidis* aislada de herida de paciente, a una concentración de 1 mg/mL.

Discusión

El mangle rojo de la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico, se ha investigado farmacológicamente desde hace varios años. Cruz (2013), demostró que el contenido de taninos en las hojas es similar al de la corteza, lo cual fue una base importante para el presente estudio, junto con la información del efecto cicatrizante de los taninos (Melchor, 1999), que ha permitido resolver la duda de si los taninos de mangle tienen esa acción y si hay diferencia entre el uso de hojas y corteza.

En la Tabla 1 los extractos etanólicos de hoja y corteza de mangle presentan elevada cantidad de taninos, un porcentaje por arriba del 10% en la mayoría de las muestras estudiadas (Sánchez, 2005). El extracto de hoja del punto 2 presentó la mayor cantidad de taninos para este órgano con un 29.28%, y el punto 5 fue el que menor cantidad presentó; mientras que en la corteza el mayor porcentaje fue en el punto 4 y el menor en el punto 1. La cantidad de taninos observadas en el

punto 2 de hoja y 4 de corteza está acorde al estudio de Travieso y colaboradores (2011), realizado en Cuba.

Desde hace algunos años se investiga en la evaluación farmacológica y el desarrollo de formulaciones a partir de *R. mangle*, para uso animal y humano, con resultados preclínicos y clínicos que han demostrado su actividad y eficacia como cicatrizante, antiséptico y antioxidante, debido mayoritariamente a la presencia de taninos (Melchor, 199; Sánchez, 1998; Sánchez, 2007; Zhang, 2010).

La cantidad de flavonoides fue variada en cada uno de los puntos, encontrándose en las muestras de hojas una mayor cantidad que en la corteza, según los promedios generales de 315 ± 90.83 y 237 ± 91.63 ppm, respectivamente (Kandil, 2004; Sánchez, 1998).

En la Tabla 2 se determinó cualitativamente que todos los extractos presentan actividad antioxidante por inhibición del radical de DPPH; cuantitativamente la mejor actividad, con el menor valor de concentración inhibitoria media (CI_{50}), es el extracto de hoja del punto 2 coincide dicho punto el valor más alto de compuestos fenólicos, lo que muestra una relación entre los valores reportados por DPPH y cuantificación de fenoles totales, los valores de actividad antioxidante se presentaron en hojas y corteza de los cinco punto de colecta. Ninguno de los resultados de los extractos presentan mejor actividad que los estándares, pero son muy cercanos y se puede visualizar como una alternativa a nivel

industrial. Banerjee y colaboradores (2008) evaluaron la actividad antioxidante de las especies de mangle y especies asociadas al manglar, estableciendo que hay especies de mangle prometedoras para ser utilizadas como fuente importante de antioxidantes naturales.

El análisis descriptivo de la cantidad de taninos, flavonoides y actividad antioxidante para los extractos etanólicos de hoja y de corteza de mangle rojo, por sitio de colecta, así como el promedio general y desviación estándar de cada órgano muestra diferencias; se pueden estar presentando ciertos factores que afecten la cantidad de los metabolitos en cada sitio de colecta (Sánchez, Escobar & Valcárcel, 2005).

En los estudios realizados sobre la actividad cicatrizante de la corteza de mangle, se atribuye a los taninos su principal acción (Faure & Rojas, 2015; Sánchez, Sánchez, Faure, Martínez, Vega, & Fernández, 2009); por su parte, los extractos de hojas presentan cantidad de taninos muy similar a los de la corteza. El estudio realizado por Sánchez y colaboradores (2009), demostró que las propiedades antioxidantes de *R. mangle* tienen una relación con el proceso de cicatrización en ratas, ya que se observó una disminución del tamaño de la herida, después del tratamiento con los extractos etanólicos de mangle rojo; con actividad cicatrizante similar a la vitamina C, usada como control.

Con base en la cantidad de polifenoles detectados y actividad antioxidante mostrada, se puede observar que los extractos etanólicos de hoja presentan una composición química equiparable a los de corteza, los cuales han reportado actividad cicatrizante. Con base en la cantidad de taninos y actividad antioxidante obtenidas se puede intuir que la hoja de mangle podría presentar la misma actividad cicatrizante que la reportada para la corteza, como lo comprobó Faure y Rojas (2015), donde demostraron que los extractos de corteza favorecía el proceso de cicatrización en heridas de bovinos. Revisiones realizadas por Süntar y colaboradores (2012) sobre plantas con actividad antioxidante y su efecto en la curación de heridas, han establecido que existe una relación por los mecanismos que intervienen en el proceso de cicatrización; por lo que los datos de actividad antioxidante que presenta los extractos de hoja de mangle rojo son prometedores para explicar el efecto cicatrizante de la misma.

La actividad antibacteriana es significativa, como se observa en la Tabla 3, para el extracto etanólico de hoja del punto 2 y casi todos los de corteza mostraron actividad mínima inhibitoria en concentración de 1

mg/mL contra *S. aureus*, *S. epidermidis* de tipo ATCC como la aislada de herida se considera que tienen un efecto leve, aunque resulta importante ya que estas son bacterias que se encuentran por lo general en la piel y pueden ocasionar infecciones en las heridas, lo que afecta o retrasa el proceso de cicatrización (Faure & Rojas, 2015; Stadelmann, Digenis & Tobin 1998). Ambos tipos de extracto requieren concentraciones por arriba de 1 mg/mL para inhibir el crecimiento de *E. coli* y *P. aeruginosa*.

La actividad antibacteriana determinada sobre *S. aureus* coincide con lo reportado por Sánchez y colaboradores (2005), que comprobaron la inhibición del crecimiento de dicha especie producida por la corteza de mangle rojo de la región de Cuba; también el estudio realizado por Faure & Rojas (2015), demostró que los extractos de mangle rojo tenían un efecto bacteriostático o bactericida sobre las heridas en las patas de bovinos y ello favorecía el proceso de cicatrización. Melchor y colaboradores (2001) demostraron que el extracto de corteza acuoso de *R. mangle* inhibía el crecimiento de siete bacterias frecuentes en infecciones de las heridas, atribuyendo la actividad probablemente a los compuestos polifenólicos; estos datos ya reportados guardan relación con lo determinado en los extractos etanólicos de hoja y corteza evaluados en esta investigación.

Existen estudios que establecen que el proceso de cicatrización se ve favorecido por la ausencia de infección bacteriana y de radicales libre durante las diferentes fases de la cicatrización (Adetutu, Morgan & Corcoran, 2011; Wang, et al, 2011). Con base en esto, se puede establecer que los extractos etanólicos de hojas de mangle rojo pueden tener buena actividad cicatrizante, ya que presentaron una actividad antioxidante importante y una actividad antibacteriana moderada; siendo importante realizar estudios posteriores sobre estimulación de proliferación de fibroblastos; con eso se tendrían toda la evidencia *in vitro* sobre la actividad cicatrizante que presenta las hojas de mangle rojo.

Agradecimientos

A la Dirección General de Investigación (Digi), por el apoyo financiero en la realización de la investigación, por medio del proyecto de ayuda financiera para trabajos de graduación.

Referencias

- Adetutu, A. Morgan, W. & Corcoran, O. (2011). Ethnopharmacological survey and in vitro evaluation of wound-healing plants used in South-western Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 50-56.
- Álvarez, E., Jiménez, O., Posada, C., Rojano, B., Gil, J., García, C., & Durando, R. (2008). Actividad antioxidante y contenido fenólico de los extractos provenientes de las bayas de dos especies del género *Vismia* (Guttiferae). *Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 15(1), 165-171.
- Arrecis, E. (1992). *Análisis de la asociación de manglar en Manchón, San Marcos-Retalhuleu, Guatemala*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Licenciatura de Química Farmacéutica. Guatemala
- Bandaranayake, W. (2002). Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. *Wetlands Ecology and Management*, 10, 421-452.
- Banerjee, D., Chakrabarti, S., Hazra, A., Banerjee, S., Ray, J & Mukherjee, B. (2008). Antioxidant activity and total phenolics of some mangroves in Sundarbans. *Journal of Biotechnology*, 7(6), 805-810.
- Castro, C., Villa, N., Ramírez, S., & Mosso, C. (2014). Uso medicinal de plantas antidiabéticas en el legado etnobotánico oaxaqueño. Universidad de la Sierra Sur. Oaxaca, México. *Rev. Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1), 101-120.
- Cruz, S. (2013). Proyecto *Evaluación del potencial agroindustrial de Mangle (Rhizophora mangle L.) como colorante, antioxidante y biocida distribuidos en la reserva Monterrico para su aprovechamiento sostenible y conservación*. (Proyecto FODECYT No. 24-2011), Guatemala: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- de-Farla, F., Alves, A., Luiz, A., Takayama, C., Dunder, R., da Silva, M., Salvador, M., Abdernur, P., Nogueira, M., Vilegas, W., Toma, W. & Monteiro, A. (2012). Antioxidant action of mangrove polyphenols against gastric damage induced by absolute ethanol and ischemia-reperfusion in the rat. *TheScientificWorldJournal*, 1, 1-9.
- Faure, Y. & Rojas, I. (2015). El uso terapéutico del mangle rojo (*Rhizophora mangle* L.) en la pododermatitis ovina en Guantánamo, Cuba. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(5), 1-3.
- Gutiérrez, Y., Miranda, M., Varona, N., & Rodríguez, A. (2000) Validación de 2 métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) en *Psidium guajaba* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 34(1), 50-55
- Herrera, W. (1986). Clima de Costa Rica. EUNED. 118.
- Kandil, F., Grace, M. & Seigler, D. (2004). Polyphenolics in *Rhizophora mangle* L. leaves and their changes during leaf development and senescence. *Tress*, 18, 518-528.
- Melchor, G. (1999) Efectos cicatrizante y antiséptico del extracto y de una forma farmacéutica obtenida a partir de *Rhizophora mangle* L. (Tesis doctoral). La Habana: Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria-Universidad Agraria de La Habana.
- Melchor, G., Armenteros, M., Fernández, O., Linares, E. & Fargas, I. (2001). Antibacterial activity of *Rhizophora mangle* bark. *Fitoterapia*, 72, 689-691.
- Menéndez, L. y Priego, A. (1994). Los manglares de Cuba: Ecología. En Suman, D. (ed.), El ecosistema de manglar en América Latina y la Cuenca del Caribe: su manejo y conservación. Rosentiel School of Marine and Atmospheric Science & The Tinker Foundation. USA, 263.
- NCCLS. (2009). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard: M2-A7. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Sharma, O. P. & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *International Journal of Food Chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- Pérez-Bueno, T., Rodríguez, Y., Morales, I., Soler, D., & Martín, N. (2011). Comportamiento reológico y extensibilidad de una formulación semisólida a partir de extracto acuoso de *Rhizophora mangle* L. *Tecnología, Ciencia y Educación*, 26(2), 75-79.

- Rodas, O. (1990). Situación del recurso mangle en Guatemala. II Reunión de trabajo sobre el recurso mangle 1-3 Agosto 1990, DIGEBOS, UICN, BANAPAC. Puerto Quetzal, Escuintla Guatemala.
- Rodríguez, H & De Martino, G. (1997). Inventario florístico de angiospermas y pteridofitas en la selva nublada cercana al edificio de la Estación Biológica de Rancho Grande del Parque Nacional Henri Pittier, estado Aragua, Venezuela. *Ernstia*, 7(1-4), 7-151.
- Sánchez, L. Escobar, A. & Valcárcer, L. (2005). Caracterización preliminar de la materia prima de *Rhizophora mangle* L. en la obtención de productos farmacéuticos procedentes de tres zonas geográficas de Cuba. *Revista Salud Animal*, 27(2), 115-123.
- Sánchez J. (2007). Propiedades antioxidantes del extracto acuoso de *Rhizophora mangle* L. y de su fracción polifenólica mayoritaria evaluadas en sistemas *in vitro* e *in vivo*. (Tesis doctoral). La Habana: Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria- Universidad Agraria de La Habana.
- Sánchez, M. (1998) *Caracterización química y actividad biológica de un extracto acuoso de la corteza de Rhizophora mangle L.* (Tesis doctoral). La Habana: Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria-Universidad Agraria de La Habana.
- Sánchez, L., Chávez, I., Macebo, B., & Lorenzo, R. (2008). Toxicidad agua y subaguda oral del extracto acuoso liofilizado de *Rhizophora mangle* L. en ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1).
- Sánchez, J. Faure, R. Martínez, G. Vega, E. & Fernández, O. (2009). Propiedades antioxidantes de *Rhizophora mangle* (L.) y su relación con el proceso de curación de heridas de ratas. *Revista Salud Animal*, 31(3), 170-179.
- Sánchez, J., Martínez, G., & Faure, R. (2011). Efecto protector de los polifenoles de *Rhizophora mangle* L. sobre el daño oxidativo a proteínas y ADN. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(1), 1-12.
- Sánchez, J., Faure, R., & Mitjavila, M. (2012). Efecto de *Rhizophora mangle* L. sobre la producción de anión superóxido en macrófagos murinos RAW 264.7. *Revista Cubana de Plantas Medicinale*, 17(3), 223-232.
- Sigüenza de Micheo R. y Ruíz-Ordoñez J. (1999). Plan Maestro de la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico. Centro de Estudios Conservacionistas, Consejo Nacional de Áreas Protegidas, Proyecto “Aprovechamiento sostenible de los recursos asociados a los manglares del Pacífico de Guatemala” (INAB-UICN-UE). Guatemala.
- Solís L.D. (2005). Desarrollo de un método de análisis de cuantificación ácido clorogénico en café. *Agro-nomía Costarricense*, 29(2), 99-107.
- Stadelmann W.K., Digenis A.G., & Tobin G.R., (1998). Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *American Journal of Surgery*, 176(2), 26S-38S. PMI
- Süntar, I., Küpeli, E., Nahar, L. & Sarker, S. (2012). Wound healing and antioxidant properties: do they coexist in plants?. *Free Radicals and Antioxidants*, 2, 1-7.
- Travieso, M., Betancourt, A., Escobar, A., Linares, A., Rodríguez, Y., & Pérez, T. (2011). Validación del método de cuantificación de taninos totales en formulaciones semisólidas de *Rhizophora mangle* L. (mangle rojo). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(1), 82-93.
- Vogel H, Gonzalez M, & Faini F. (2005). Antioxidant properties and TLC characterization of four Chilean Haplopappus-spices known as bailahuén. *J Ethnopharmacol*, 97,97-100
- Wang, J., Ruan, J., Cai, Y., Luo, Q., Xu, H., & Wu, Y. (2011). In vitro and in vivo evaluation of the wound healing properties of *Siegesbeckia pubescens*. *Journal of Ethnopharmacology*, 134, 1033-1038.
- Walters, B., Rönnbäck, P., Kovacs, J., Crona, B., Hussain, S., Badola, R., Primavera, J., Barbier, E. & Dahdouh-Guebas, F. (2008). Etnobiology, socio-economics and management of mangrove forest: A review. *Aquatic Botany*, 89, 220-236.
- Yang, B., Zhao, M., & Shi, J., (2008). Effect of ultrasonic treatment on the recovery and DPPH radical scavenging activity of polysaccharides from Logan fruit pericarp. *Food Chemistry*, 106,658-690.
- Zhang, L., Lin, Y., Zhou, H., Wei, S. & Chen, J. (2010). Condensed tannins from mangrove species *Kandelia candel* and *Rhizophora mangle* and their antioxidant activity. *Molecules*, 15, 420-431.