



UNIVERSITAT
ROVIRA i VIRGILI

Comparación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de diferentes productos naturales frente *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Revisión bibliográfica.

Patricia Valdivia Moreno

TRABAJO FINAL DE GRADO BIOTECNOLOGÍA

Tutora académica: Magdalena Constantí Garriga. Departamento de Ingeniería química (URV).

E-mail: magdalena.constanti@urv.cat

10 de julio de 2020

Facultad de Enología

Yo, Patricia Valdivia Moreno, con DNI 47999967W, soy conocedora de la guía de prevención de plagio en la URV Prevención, detección y tratamiento del plagio en la docencia: guía para estudiantes (aprobada en julio 2017) (<http://www.urv.cat/ca/vidacampus/serveis/crai/que-us-oferim/formacio-competencies-nuclears/plagi/>) y afirmo que este TFG no constituye ninguna de las conductas consideradas como plagio para la URV.

Tarragona, 10 de julio de 2020

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Patricia', written over a horizontal line.

Contenido

Resumen	1
Abstract	1
Resum	2
Justificación del tema	2
Introducción	3
Estrés oxidativo y actividad antioxidante	5
Actividad antimicrobiana.....	6
<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	6
Hipótesis y objetivos del trabajo	7
Hipótesis de trabajo	7
Objetivos principal y secundarios	7
Búsqueda bibliográfica	7
Criterios de búsqueda.....	7
Criterios de inclusión y exclusión.....	8
Selección de estudios	8
Evaluación de las revistas en las que se encuentran los artículos seleccionados	9
Materiales y métodos	13
Productos naturales	13
Bacterias y cepas usadas.....	13
Actividad antioxidante. Búsqueda de radicales libres por el método DPPH	14
Actividad antimicrobiana. Técnica de microdilución en caldo y valor MIC	15
Resultados	17
Tabla de resultados.....	17
Actividad antimicrobiana.....	20
1. <i>Jatropha gossypifolia</i> L.....	20
2. <i>Dennettia tripetala</i>	20
3. <i>Murraya paniculata</i>	21
4. <i>Albizia odoratissima</i>	21
5. <i>Premna microphylla Turczaninovia</i>	21
6. <i>Mentha pulegium</i> y <i>Rosmarinus officinalis</i>	21
7. <i>Salvia barrelieri</i> Etl.....	22
8. <i>Grewia flava</i>	22
9. <i>Makhlaseh</i>	23
10. <i>Salvia sessei</i> Benth.....	23
11. <i>Schinus terebinthifolius</i>	23

12.	<i>Melipona quadrifasciata quadrifasciata y Tetragonisca angustula</i>	23
13.	<i>Miconia latecrenata</i>	23
14.	Monoterpenos oxigenados e hidrocarburos	24
15.	Cáscara de granada	24
16.	<i>Etlingera elatior</i>	24
Actividad antioxidante		25
1.	<i>Jatropha gossypifolia</i> L	25
2.	<i>Dennettia tripetala</i>	26
3.	<i>Murraya paniculata</i>	26
4.	<i>Albizia odoratissima</i>	26
5.	<i>Premna microphylla Turczaninovii</i>	27
6.	<i>Mentha pulegium y Rosmarinus officinalis</i>	27
7.	<i>Salvia barrelieri</i> Etl.	27
8.	<i>Grewia flava</i>	28
9.	<i>Makhlaseh</i>	28
10.	<i>Salvia sessei Benth.</i>	28
11.	<i>Schinus terebinthifolius</i>	28
12.	<i>Melipona quadrifasciata quadrifasciata y Tetragonisca angustula</i>	29
13.	<i>Miconia latecrenata</i>	29
14.	Monoterpenos oxigenados e hidrocarbonados	29
15.	Cáscara de granada	30
16.	<i>Etlingera elatior</i>	30
Discusión		30
Actividad antimicrobiana		30
Actividad antioxidante		32
Conclusiones		35
Agradecimientos		36
Limitaciones		36
Autoevaluación		37
Bibliografía		38
Bibliografía de documentos e imágenes		38
Anexo 1		42
Anexo 2		44
Anexo 3		45

Resumen

La resistencia generada por algunas bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* a diferentes antibióticos es uno de los problemas más significativos de la medicina en los últimos años. Si, además, se tienen en cuenta las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo de las células, la pérdida de eficacia tanto de los antibióticos como de los compuestos antioxidantes sintéticos que se usan hoy en día y que están relacionados con algunos efectos secundarios, obtenemos como resultado la necesidad de encontrar alternativas eficientes para solventar estos problemas. Por ello este estudio se centra en la comparación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de diferentes productos naturales además de la determinación de la composición química presente en éstos relacionada tanto con la actividad antimicrobiana frente *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* mediante el análisis del valor de concentración mínima inhibitoria (MIC) obtenido por la técnica de microdilución en caldo y, además que esté relacionada con la actividad antioxidante evaluada mediante el método 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) obteniendo el valor IC50. Estos productos naturales podrían presentar aplicabilidad farmacéutica al usarse en sinergia con algunos medicamentos ya existentes.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, antibióticos, antioxidantes, MIC, DPPH.

Abstract

The resistance generated by some bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to different antibiotics is one of the most significant problems of medicine in recent years. If, in addition, we take into account diseases related to oxidative stress of cells, the loss of effectiveness of both antibiotics and synthetic antioxidant compounds used today and that, in addition, are related to some side effects, we get as a result the need to find efficient alternatives to solve these problems. Therefore, this study focuses on the comparison of the antimicrobial and antioxidant activity of different natural products in addition to the determination of the chemical composition present in these products related to both the antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by means of the analysis of the minimum inhibitory concentration value (MIC) obtained by the microdilution technique in broth, and also related to the antioxidant activity evaluated by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil method (DPPH) obtaining the IC50 value. These natural products may have pharmaceutical applicability when used in synergy with some existing drugs.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, antibiotics, antioxidants, MIC, DPPH.

Resum

La resistència generada per alguns bacteris com *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* a diferents antibiòtics és un dels problemes més significatius de la medicina en els últims anys. Si, a més, es tenen en compte les malalties relacionades amb l'estrès oxidatiu de les cèl·lules, la pèrdua d'eficàcia tant dels antibiòtics com dels compostos antioxidants sintètics que s'usen avui dia i que, a més, estan relacionats amb alguns efectes secundaris, obtenim com a resultat la necessitat de trobar alternatives eficients per a solucionar aquests problemes. Per això aquest estudi se centra en la comparació de l'activitat antimicrobiana i antioxidant de diferents productes naturals i en la determinació de la composició química present en aquests relacionada amb l'activitat antimicrobiana front *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* mitjançant l'anàlisi del valor de concentració mínima inhibidora (MIC) obtingut per la tècnica de microdilució en brou i, a més que estigui relacionada amb l'activitat antioxidant avaluada mitjançant el mètode 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) obtenint el valor IC50. Aquests productes naturals podrien presentar aplicabilitat farmacèutica en usar-se en sinergia amb alguns medicaments ja existents.

Paraules clau: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, antibiotics, antioxidants, MIC, DPPH.

Justificación del tema

La elección del tema seleccionado para realizar este trabajo reside en la gran necesidad actual de encontrar nuevas alternativas a los antibióticos sintéticos debido a la resistencia que han generados diferentes microorganismos, en especial las bacterias. Además, los compuestos antioxidantes sintéticos presentan efectos secundarios indeseados para el ser humano. Uniendo estas dos ideas y sabiendo que *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* son dos de los microorganismos patógenos que producen más enfermedades infecciosas, se determinó llevar a cabo la comparación de la actividad antimicrobiana mediante la obtención del valor MIC realizando la microdilución en caldo y la actividad antioxidante mediante el valor IC50 obtenido de la técnica 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) de diversos productos naturales, un total de 17, en dichas bacterias patógenas. Además de esto, se estudia la relación entre la composición química y las actividades anteriormente mencionadas. La finalidad es encontrar uno o un grupo de productos naturales con valores óptimos que puedan usarse en sinergia junto algunos medicamentos ya existentes para potenciar sus propiedades.

Introducción

El primer antibiótico empleado en medicina fue la penicilina, descubierta en 1928 por Alexander Fleming. Se podría llegar a pensar que ese fue el inicio de la historia de los antibióticos, pero éstos han existido siempre en la medicina tradicional procedente de los vegetales. Esta información no disminuye la importancia en el descubrimiento de la penicilina, pues proporcionó tratamientos efectivos a muchas enfermedades causadas por bacterias y causó un antes y un después en la historia de la medicina.

Las bacterias no tardaron en desarrollar resistencia a este y otros antibióticos mediante la síntesis de enzimas β -lactamasas cuya función reside en hidrolizar el anillo β -lactámico que contienen los antibióticos y que le proporcionan la propiedad antibacteriana. Hoy en día se ha observado resistencia a antibióticos en más del 70% de bacterias patógenas¹.

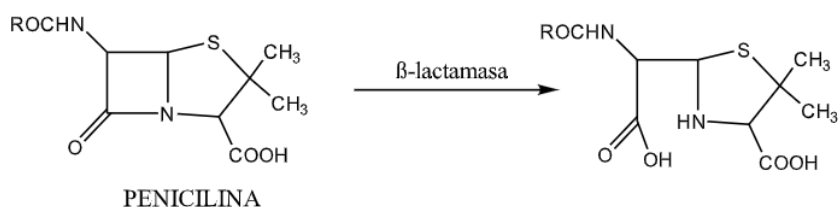


Ilustración 1. Hidrólisis de la penicilina por la enzima β -lactamasa dibujado con el programa ChemDraw.

El mecanismo de reacción de las β -lactamasas, tal y como se muestra en la *Ilustración 2*, consiste en una primera protonación del oxígeno carbonílico, seguido de un ataque nucleófilo del agua al carbonilo, el grupo amina desprotona uno de los H del agua estabilizándola que pasa a ser OH, una eliminación de la amina protonada y, por último, se desprotona el grupo carbonilo recuperando así el medio ácido del principio de la reacción.

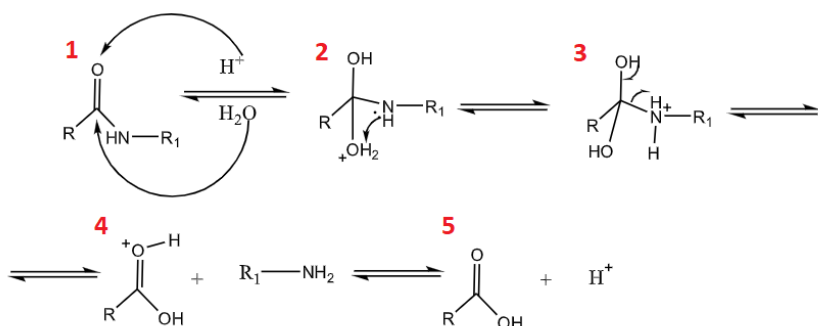


Ilustración 2. Mecanismo de reacción de la β -lactamasa dibujado con el programa ChemDraw.

El aumento de la resistencia a antibióticos por parte de las bacterias no recae única y exclusivamente en la aparición de enzimas y nuevas toxinas microbianas, sino que también sobre la aparición de nuevas cepas bacterianas resistentes a una multitud de fármacos.

Además, existen diferentes motivos por los cuales la resistencia a los antibióticos se ha visto incrementada en los últimos años. La preinscripción inadecuada de antibióticos y la escasez de nuevos medicamentos por la falta de inversión económica son ejemplo de ello². A esto se le debe sumar el aumento de la incidencia de enfermedades de origen bacteriano, las relacionadas con el estrés oxidativo (enfermedades neurodegenerativas y el cáncer)³ y los efectos secundarios no deseados de algunos antibióticos⁴. Todo esto propició un gran incremento en la resistencia a las terapias de antibióticos. Debido a esta problemática mundial, la comunidad médica y científica ha tenido que buscar posibles soluciones como el uso de productos naturales en los que se basa la medicina tradicional. Ésta se utilizaba regularmente antes del descubrimiento de la penicilina para tratar enfermedades bacterianas y aún hoy en día se sigue usando en países en desarrollo y en más de un 80% de la población mundial para satisfacer las necesidades de atención primaria de salud⁵. Cabe añadir que la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda desde 2002 que los gobiernos integren la fitoterapia en los programas de atención primaria usando los recursos naturales que hay disponibles en sus territorios en la medida de lo posible⁶.

El interés por estos productos naturales recae en que diferentes estudios han demostrado que los fitoquímicos y compuestos fenólicos son las moléculas que le confieren a los productos naturales la actividad antioxidante y, probablemente, antibacteriana⁷. Además son fácilmente accesibles y asequibles para la población.

A parte de los compuestos fenólicos encontramos otros que también presentan beneficios para la salud como son los fitoquímicos (ácido linoleico y fitoesterol, entre otros), taninos, alcaloides y flavonoides y normalmente se encuentran en los aceites esenciales de las plantas³.

En los últimos años ha habido un incremento en el número de estudios relacionados directamente con el descubrimiento de los beneficios que presentan para la salud y que se atribuyen a diferentes propiedades biológicas como potentes antibacterianos, antioxidantes y anticancerígenos, entre otras. Además, se ha observado que los productos naturales usados en la medicina tradicional presentan una actividad antibacteriana más fuerte y con menos efectos secundarios que los medicamentos químicos⁸.

Según Al-Mamun et al. 2016⁵ las industrias farmacéuticas actuales dependen de los compuestos naturales usados en la medicina tradicional como una posible fuente de candidatos a fármacos teniendo en cuenta que más del 60% de los fármacos anticancerígenos usados hoy en día tienen alguna relación con productos herbales.

Estrés oxidativo y actividad antioxidante

El estrés oxidativo ocurre cuando las reacciones antioxidantes ocurren en menor medida respecto a las reacciones de oxidación de los componentes celulares por los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno (ROS)⁹, subproductos del metabolismo del oxígeno. Cuando los niveles de ROS se vuelven significativos pueden llegar a producir daños en las diferentes estructuras celulares, dando lugar al estrés oxidativo. Estas especies reactivas de oxígeno, como por ejemplo iones de oxígeno o peróxidos muy reactivos, están implicadas en una gran variedad de enfermedades como el cáncer, arteriosclerosis, infecciosas, neurodegenerativas¹⁰, diabetes y obesidad entre otras⁹. Por otro lado, los antioxidantes sintéticos utilizados hoy en día, como el butilhidroxianisol (BHA), el butilhidroxitolueno (BHT) y la tert-butilhidroquinona (TBHQ), presentan efectos secundarios especialmente en enfermedades relacionadas con el estrés³, como efectos de toxicidad, daño hepático, carcinogénesis y daño de la doble hélice de DNA.

Según Gontijo et al. 2019¹⁰ los compuestos fenólicos procedentes de vegetales presentan una acción destacada como complemento al sistema antioxidante enzimático celular y podrían llegar a reducir los efectos de diferentes ROS. Además, tienen la capacidad de captar los radicales libres mediante el grupo hidroxilo, inhibir enzimas productoras de radicales libres y desactivar iones metálicos debido a la reducción y/o quelación¹¹. De esta manera, y sabiendo que se podrían llegar a tratar la mayoría de las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, existe un gran interés en el estudio de estos compuestos fenólicos.

Existen diferentes técnicas para determinar la capacidad antioxidante de un compuesto, pero las más utilizadas son la del catión radical 2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato (ABTS) y la técnica que se basa en el uso del radical libre estable 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo o 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). El valor más usado para determinar la actividad antioxidante es el IC₅₀ y hace referencia a la concentración del producto a evaluar necesaria para reducir el 50% de los radicales DPPH·.

Además, cabe añadir que parte de los compuestos fenólicos de origen vegetal con actividad antioxidante, presentan también actividad antimicrobiana. Un ejemplo de ello son los biflavonoides, un gran grupo de compuestos polifenólicos, que son de gran

interés debido a que pueden llegar a presentar notables beneficios para la salud, no únicamente mejorando la actividad antioxidante, sino también la antibacteriana¹².

Actividad antimicrobiana

Es por esto por lo que se puede llegar a pensar que los aceites esenciales y todos los compuestos que forman parte de ellos pueden servir como una alternativa tanto a los antioxidantes sintéticos como a los antibióticos. En particular, la naturaleza lipofílica propia de los aceites esenciales permite difundir la membrana celular de los microorganismos. Debido a esta propiedad, tienen la capacidad de interactuar con las membranas celulares aumentando la permeabilidad y alterando la estructura. Esto puede dar lugar a la inhibición del crecimiento celular por el escape de iones y otros compuestos celulares.

Los compuestos químicos relacionados con la actividad antimicrobiana son los fenoles, y los flavonoides, entre otros. Los terpenos, terpenoides y fenilpropanoides también están estrechamente relacionados con la actividad antimicrobiana debido a la composición química. Según Hyldgaard et al. 2012¹³ la actividad antimicrobiana de algunos compuestos está vinculada a los grupos funcionales que presentan; el grupo hidroxilo de los terpenoides fenólicos tienen un papel fundamental en la actividad antimicrobiana junto con la deslocalización de electrones que presenta. Uno de los mecanismos de acción propuestos consiste en el aumento de la permeabilidad de la membrana celular promoviendo la fuga de iones y componentes intracelulares propiciando de este modo la muerte celular.

Una de las maneras que existen actualmente de medir la inhibición de microorganismos es mediante el valor MIC. Este parámetro nos indica la concentración mínima de compuesto antibacteriano necesario para inhibir el crecimiento de un microorganismo¹⁴.

Staphylococcus aureus y *Escherichia coli*

A todas estas ideas expuestas, cabe añadir que tanto *Escherichia coli* como *Staphylococcus aureus* son bacterias que causan diversas infecciones y en los últimos años se ha observado un aumento en las cepas de resistencia de ambas por lo que se ha convertido en una preocupación a nivel mundial aumentando la necesidad de encontrar nuevos compuestos antimicrobianos⁷.

Escherichia coli es una bacteria gram-negativa, forma parte de la microbiota del tracto gastrointestinal. Se transmite a los humanos, en la mayoría de los casos, a través de los alimentos. Puede causar infecciones del tracto urinario, diarrea y otras enfermedades relacionadas con el consumo de alimentos¹².

Staphylococcus aureus es una bacteria gram-positiva, un coco inmóvil y, de la misma manera que *Escherichia coli*, forma parte de la microbiota del cuerpo, concretamente se encuentra ubicada en las vías respiratorias superiores y en la piel⁷. Aun así, es una causa común de infección del torrente sanguíneo y de la piel⁹.

Hipótesis y objetivos del trabajo

Hipótesis de trabajo

Los productos naturales son una prometedora sustitución de los antioxidantes y antimicrobianos sintéticos actuales debido a su composición química.

Objetivos principal y secundarios

El principal objetivo de esta revisión bibliográfica es realizar una comparación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de diferentes productos naturales en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. La finalidad del trabajo es justificar el uso de diferentes productos naturales en la industria farmacéutica.

Dentro de los objetivos secundarios se encuentran:

- Determinar qué solventes orgánicos presentan mejores resultados para ambas actividades.
- Determinar el papel que desempeña el hecho de que las bacterias sean gram-negativas o gram-positivas en la actividad antibacteriana.
- Determinar la composición química relacionada con las actividades antimicrobiana y antioxidante de los diferentes productos naturales.
- Explicar por qué la mayoría de los artículos realizan la técnica DPPH y lo suplementan con otras pruebas.

Búsqueda bibliográfica

Criterios de búsqueda

La búsqueda de los diferentes artículos se ha realizado en la base de datos NCBI, en Google scholar y en el Web Of Science (WOS) del CRAI siguiendo el siguiente criterio:

NCBI: antibacterial [AND] natural products [AND] s. aureus [AND] e. coli [AND] antioxidant [AND] MIC [AND] DPPH.

Se utiliza el operador lógico AND para especificar que todos los términos deben estar presentes en los artículos. Se podrían haber usado los operadores NOT y OR, el primero para eliminar directamente algunos artículos que poseyeran términos no buscados y el segundo para seleccionar artículos que tuvieran una palabra similar a la buscada. En la

práctica, no ha sido necesario usarlos ya que las palabras propuestas son de una elevada especificidad.

Se han encontrado resultados en las bases de datos PubMed, ELSEVIER, Science Direct, en la biblioteca electrónica Scielo y la revista científica Nature, entre otras.

La fecha en la que se realizó la búsqueda bibliográfica de los artículos fue durante el mes de abril. Una vez encontrados y evaluados los artículos no se volvieron a buscar otros de los que obtener resultados.

Criterios de inclusión y exclusión

Tabla 1. Esquema general de los criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión	Cuartiles 1, 2 y 3 (éste último excepcionalmente en tres artículos)
	Especie: <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>
	Metodología: <i>in vitro</i>
	Tipo de estudio: Estudios experimentales donde se analicen la composición química de los diferentes productos naturales y se evalúen la actividad antioxidante y antibacteriana.
	Técnicas: Método 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo o 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para hacer referencia a la actividad antioxidante y la técnica de microdilución en caldo para la actividad antibacteriana.
	Idioma: Inglés
	Publicados a partir de 2015 (incluido)
Criterios de exclusión	Cuartiles > 3
	Especie: Diferente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>
	Tipo de estudio: Estudios experimentales donde se analice la toxicidad, actividad antifúngica y antivírica únicamente. También se descartarán todos aquellos artículos en los que se usen técnicas diferentes a las nombradas en los criterios de inclusión.
	Idioma: Cualquiera diferente al inglés
	Publicados antes del 2015 (no incluido)

Selección de estudios

Tras realizar la búsqueda en la base de datos NCBI mediante la introducción de los criterios de búsqueda y los criterios de inclusión y exclusión se obtienen un total de 48 artículos. El siguiente paso es hacer una lectura del apartado “Abstract” para verificar que el objetivo y la metodología coinciden con los criterios anteriormente nombrados,

se seleccionan 38 artículos. Mediante una lectura exhaustiva de todos los artículos seleccionados previamente, se descartan 22 por no cumplir los criterios, no proporcionar información adecuada para el trabajo y/o no realizar el estudio mediante las metodologías deseadas.

Como resultado final se obtienen 16 artículos.

Evaluación de las revistas en las que se encuentran los artículos seleccionados

Se estudió detenidamente la calidad de los artículos seleccionados mediante el análisis de los cuartiles y el factor de impacto de las revistas en las que se encuentran publicados. Ambos términos hacen referencia al número de veces que han sido citados dichos artículos, por lo que, a mayor número de citaciones, mayor calidad del artículo.

El valor referente al cuartil debe ser pequeño siendo las revistas con cuartil 1 las que presentan un valor óptimo mientras que a partir de cuartil 3, los resultados obtenidos no son de tanta calidad. Se usa la página web *Scimago Journal & Country Rank* (<https://www.scimagojr.com/>) para encontrar el cuartil de cada revista.

El valor correspondiente al factor de impacto hace referencia a la frecuencia de citaciones que reciben los artículos dentro de un mismo ámbito y en un año en concreto^{15,16}. Es de gran interés que las revistas posean un elevado factor de impacto. Entrando en la página web del CRAI de la Universidad Rovira i Virgili encontramos un apartado llamado “*Journal Citation Reports*”, accedemos con el usuario de la universidad y podemos obtener el factor de impacto de las diferentes revistas a evaluar.

Tabla 2. Esquema general de los diferentes 16 artículos seleccionados.

Título	Autores	Revista	Año de publicación	Cuartil	Factor de impacto	Referencia
Antibacterial and Antioxidant Properties of the Leaves and Stem Essential Oils of <i>Jatropha gossypifolia</i> L.	Okoh SO, Iweriebor BC, Okoh OO, Nwodo UU, Okoh AI.	BioMed Research International	2016	2	2,276	17
Bactericidal and antioxidant properties of essential oils from the fruits <i>Dennettia tripetala</i> G. Baker.	Okoh SO, Iweriebor BC, Okoh OO, Nwodo UU, I.Okoh A.	BMC Complementary and Alternative Medicine	2016	1	2,833	18
Effects of β-caryophyllene and <i>Murraya paniculata</i> essential oil in the murine hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time-kill curve studies.	Neta MCS, Vittorazzi C, Guimarães AC, Martins JDL, Fronza M, Endringer DC, et al.	Pharmaceutical Biology	2016	2	2,971	6
Phytochemical screening and evaluation of in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the indigenous medicinal plant <i>Albizia odoratissima</i>.	Banothu V, Neelagiri C, Adepally U, Lingam J, Bommareddy K.	Pharmaceutical Biology	2017	2	2,971	4
Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of essential oil from <i>Premna microphylla turczaninow</i>.	Zhang HY, Gao Y, Lai PX.	Molecules	2017	2	3,267	19
Chemical composition of <i>Mentha pulegium</i> and <i>Rosmarinus officinalis</i> essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities.	Bouyahya A, Et-Touys A, Bakri Y, Talbaui A, Fellah H, Abrini J, et al.	Microbial Pathogenesis	2017	3	2,914	3

Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities of triterpenes and flavonoids from the aerial parts of <i>Salvia barrelieri</i> Etl.	Lehbili M, Alabdul Magid A, Kabouche A, Voutquenne-Nazabadioko L, Abedini A, Morjani H, et al.	African Health Sciences	2017	2	0,690	20
Anti-bacterial, free radical scavenging activity and cytotoxicity of acetone extracts of <i>Grewia flava</i> .	Lamola SM, Dzoyem JP, Botha F, Van Wyk C.	African Health Sciences	2017	2	0,690	21
Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition <i>Makhlaseh</i> extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection.	Alizadeh Behbahani B, Imani Fooladi AA.	Microbial Pathogenesis	2017	3	2,914	8
Sessein and isosessein with anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant activity isolated from <i>Salvia sessei</i> Benth.	Gómez-Rivera A, González-Cortazar M, Herrera-Ruíz M, Zamilpa A, Rodríguez-López V.	Journal of Ethnopharmacology	2018	1	3,690	22
Antibacterial activity of extracted bioactive molecules of <i>Schinus terebinthifolius</i> ripened fruits against some pathogenic bacteria.	Salem MZM, El-Hefny M, Ali HM, Elansary HO, Nasser RA, El-Settawy AAA, et al.	Microbial Pathogenesis	2018	3	2,914	23
Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from <i>Melipona quadrifasciata</i> and <i>Tetragonisca angustula</i> stingless bees.	Torres AR, Sandjo LP, Friedemann MT, Tomazzoli MM, Maraschin M, Mello CF, et al.	Brazilian Journal of Medical and Biological Research	2018	1	2,023	2
Antioxidant study indicative of antibacterial and antimutagenic	Gontijo DC, Gontijo PC, Brandão GC, Diaz MAN,	Journal of Ethnopharmacology	2019	1	3,690	10

activities of an ellagitannin-rich aqueous extract from the leaves of <i>Miconia latecrenata</i> .	de Oliveira AB, Fietto LG, et al.					
Antimicrobial and antioxidant activities of hydrocarbon and oxygenated monoterpenes against some foodborne pathogens through in vitro and in silico studies.	Badawy MEI, Marei GIK, Rabea EI, Taktak NEM.	Pesticide Biochemistry and Physiology	2019	1	2,751	7
Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel.	Mphahlele RR, Fawole OA, Makunga NP, Opara UL.	BMC Complementary and Alternative Medicine	2016	1	2,833	24
Secondary metabolites constituents and antioxidant, anticancer and antibacterial activities of <i>Etlingera elatior</i> (Jack) R.M.Sm grown in different locations of Malaysia.	Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Rahmat A, Ashkani S.	BMC Complementary and Alternative Medicine	2015	1	2,833	25

Materiales y métodos

Productos naturales

Los productos naturales cuyos valores de MIC y IC50 van a ser comparados son *Jatropha gossypifolia* L, *Dennettia tripetala*, *Murraya paniculata*, *Albizia odoratissima*, *Premna microphylla turczaninovii*, *Mentha pulegium*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia barrelieri*, *Grewia flava*, *Makhlaseh*, *Salvia sessei*, *Schinus terebinthifolius*, propolis de *Melipona quadrifasciata*, propolis de *Tetragonisca angustula*, *Miconia latecrenata*, cáscara de granada y *Etlingera elatior*.

El nombre de la especie, la familia a la que pertenecen, la localización y una imagen de cada producto natural usado en este trabajo, se encuentran recopilados en la tabla 6 del Anexo 1.

Bacterias y cepas usadas

Para la comparación de la actividad antimicrobiana frente *Staphylococcus aureus* se han usado las cepas NCINB 50080, ATCC25923, E40, ATCC 6538, CECT 994, CIP 53.154, ATCC 29213, ATCC 33 591 y ATCC 12600. Para *Escherichia coli* se han usado las cepas ATCC 700728, ATCC8739, E72, ATCC 25922, K12, CIP 54.127, ATCC 35210, *Escherichia coli* 24, ATCC 8739, ATCC 11775 y ATCC 28922.

Tabla 3. Cepas usadas en cada uno de los 16 estudios a evaluar.

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> (NCINB 50080)	<i>Escherichia coli</i> O157 (ATCC 700728)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC8739
<i>Staphylococcus aureus</i> (E40)	<i>Escherichia coli</i> (E72)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)
<i>Staphylococcus aureus</i> CECT 994	<i>Escherichia coli</i> K12
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 53.154	<i>Escherichia coli</i> CIP 54.127
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35210
<i>Staphylococcus aureus</i> 4125 (ATCC 33 591)	<i>Escherichia coli</i> 24
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 28922

Actividad antioxidante. Búsqueda de radicales libres por el método DPPH

Existen diferentes técnicas para determinar la actividad antioxidante de un compuesto, pero la más utilizada es la que se basa en el uso del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo o 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y tiene como objetivo medir la capacidad de una muestra para eliminar este radical libre mediante la donación de átomos de hidrógeno o electrones. Según Banothu et al. 2017⁴ el ensayo DPPH es un método simple, rápido, económico y ampliamente utilizado para evaluar la actividad antioxidante.

El ensayo de radicales DPPH ilustra que un donante de electrones o átomos de hidrógeno actúa como antioxidante y su efecto se demuestra en el paso de DPPH[•] a DPPH-H, el color se desvanece (de púrpura a amarillo) en la muestra de prueba debido a la formación de la molécula DPPH-H neutra al absorber el hidrógeno de la muestra de la cual se quiere obtener la actividad antioxidante¹⁸.

El primer paso que se debe llevar a cabo es la mezcla de los compuestos de interés junto con DPPH y un solvente orgánico como etanol, metanol o DMSO, entre otros. La elección de este solvente aumentará o disminuirá la velocidad de reacción de los antioxidantes la cual suele aumentar más cuando se usan alcoholes como solventes²⁶. Seguidamente se debe agitar enérgicamente e incubar la muestra a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos. Una vez pasado el tiempo, se llevan las muestras al espectrofotómetro y se mide la absorbancia a 517 nm. El solvente orgánico usado en cada caso se usa como blanco para el cálculo y normalmente se usa ácido ascórbico o BHT (butilhidroxitolueno) como control positivo dado que son considerados buenos antioxidantes.

Para obtener la actividad antioxidante o de radicales libres de los extractos, se busca el porcentaje de inhibición de la absorción como la potencia del aceite esencial para reducir DPPH[•] a una molécula neutra usando la siguiente fórmula. A partir de ésta, se determinaron los valores de IC50.

$$\% \text{ inhibición de DPPH} = \frac{(Abs_{control} - Abs_{muestra})}{Abs_{control}} \times 100$$

El Abs_{control} hace referencia a la mezcla de DPPH y el solvente orgánico usado en cada experimento y Abs_{muestra} indica la absorbancia de la mezcla entre DPPH y el compuesto del cual se quiere obtener la actividad antioxidante.

El IC50 es la concentración del aceite esencial o estándar de referencia (control positivo) necesario para reducir el 50% de los radicales DPPH·, se obtiene de la ecuación generada a partir de la curva estándar producida usando los resultados obtenidos tanto de las muestras a estudiar como de los controles. Además, se debe llevar a cabo un análisis de correlación y una prueba T de Pearson para determinar las diferencias significativas mediante la herramienta informática SPSS 15.0 para Windows^{4,17}.

Según Banothu et al. 2017⁴ un valor de IC50 más bajo indica una mayor actividad antioxidante.

Actividad antimicrobiana. Técnica de microdilución en caldo y valor MIC

El valor MIC corresponde a la concentración mínima inhibitoria requerida por parte de un compuesto para inactivar un microorganismo. Para evaluar los valores MIC o CMI se lleva a cabo la técnica de microdilución en caldo.

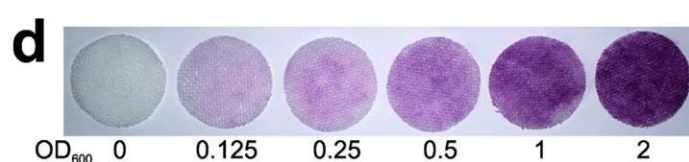
La técnica de microdilución en caldo consiste en añadir diferentes volúmenes del producto natural a evaluar (potencial antibiótico) mezclado con un solvente orgánico como puede ser DMSO en medio Mueller-Hinton (MHB) líquido. En algunas ocasiones el medio de cultivo usado es la infusión de cerebro corazón (BHI) líquido, en inglés *Brain heart infusion*, como ocurre en Torres et al. 2018². Finalmente, se debe añadir el inóculo que en este caso hace referencia tanto a *Escherichia coli* como a *Staphylococcus aureus*. En algunos experimentos, se llevan a cabo algunas diluciones de los aceites esenciales de los productos naturales de los cuales se quiere determinar la actividad antimicrobiana y, además, se normaliza la suspensión microbiana al estándar de turbidez de McFarland 0,5 que hace referencia a 1×10^8 CFU/mL. Todas las microplacas deben incluir un control negativo y uno positivo con el antibiótico apropiado. La temperatura de cultivo es de 37°C durante 24 horas, aproximadamente.

Este procedimiento se encuentra recogido en Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI M.07-A.9. M.07 – *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*.

La forma en la que se mide la actividad antimicrobiana y se obtiene el valor MIC a partir de las microplacas puede ser variada. En algunos experimentos este valor se mide en placas de agar Mueller Hinton sólido midiendo el diámetro de inhibición^{17,18,25}. Otra forma de cuantificar el valor MIC es mediante la adición de CTT (solución de 2,3,5-trifenil tetrazolio al 0,5% en agua desionizada) que tiñe únicamente aquellas bacterias que están vivas como ocurre en Neta et al. 2017⁶ donde su color varía a rojo/rosa cuando es reducido por los microorganismos y no muestra coloración cuando los microorganismos han sido inhibidos^{19,24}.

Otra alternativa es añadir MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltrazolio) el cual no cambia de color a azul (se mantiene incoloro) cuando las células no están vivas como en Banothu et al. 2017⁴, en Grela et al. 2018²⁷ y en Gómez-Rivera et al. 2018²². Añadir resazurina también nos permite obtener cuantitativamente el valor MIC ya que esta varía de color azul a rosado cuando es reducido por los microorganismos como ocurre en Bouyahya et al. 2017³ y en Torres et al. 2018². La sal INT (cloruro de yodonitrotetrazolio) se puede añadir ya que al entrar en contacto con bacterias, estas reducen el compuesto y se obtiene una coloración púrpura/roja^{10,28}.

Ilustración 3. Técnica de la sal INT (cloruro de yodonitrotetrazolio) para la identificación de microorganismos en textiles. Se aplicaron soluciones con diferentes concentraciones de Staphylococcus aureus sobre tejido de poliéster y se tiñeron con INT durante 30 minutos²⁸.



Estas técnicas colorimétricas permiten obtener el valor MIC mediante la obtención de curvas de calibrado a partir de los resultados de las absorbancias encontradas en cada caso. De estas curvas se pueden extraer los valores de las concentraciones que hacen referencia al valor MIC.

Tabla 4. Tabla resumen de los diferentes métodos por los que se puede determinar el valor MIC.

Técnica	Ejemplos	Determinación de la inhibición
Placa agar Mueller Hinton sólido		Midiendo el diámetro de inhibición.
Microdilución en caldo Mueller Hinton líquido y posterior adición de compuestos químicos	CTT	Tiñe las bacterias vivas a rojo/rosa
	MTT	Varía el color a azul cuando las bacterias están vivas
	Resazurina	Varía el color de azul a rosado cuando es reducida por los microorganismos.
	Sal INT	Los microorganismos reducen el compuesto y se obtiene color púrpura/roja.

Resultados

Tabla de resultados

Tabla 5. Esquema de los resultados MIC e IC50 encontrados en los diferentes 16 artículos. En el apartado valor MIC de ambas especies se especifica qué cepa se ha usado en cada artículo y en el apartado referente al valor IC50 se especifica qué tipo de solvente orgánico se ha usado para llevar a cabo la extracción (cuando se especifica).

Autores	Objetivo	Actividad antimicrobiana frente <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	Actividad antioxidante
Okoh et al. BioMed Research International (2016)	Evaluar las propiedades antibacterianas y antioxidantes de los aceites esenciales de las hojas y el tallo de la <i>Jatropha gossypifolia</i> .	Mejor actividad antimicrobiana frente ambos microorganismos en los extractos de las hojas con un valor MIC de 0,05 mg/mL en ambos casos.	Los resultados mostraron que los extractos tanto de las hojas como del tallo presentan una óptima actividad antioxidante .
Okoh et al. BMC Complementary and Alternative Medicine (2016)	Investigar in vitro las propiedades antibacterianas y antioxidantes de los aceites esenciales de los frutos inmaduros y maduros de la <i>Dennettia tripetala</i> y su potencial para el tratamiento de enfermedades infecciosas y de estrés oxidativo.	Se observa una actividad antimicrobiana moderada mayor en los extractos de los frutos inmaduros con un valor MIC frente <i>Escherichia coli</i> de 0,15 y frente <i>Staphylococcus aureus</i> de 0,10 mg/mL	Ambos extractos mostraron notables efectos antioxidantes . El efecto inhibitorio de los dos aceites fue más fuerte que la vitamina C, pero cuando se comparó con el β -caroteno, se obtuvieron resultados similares.
Neta MCS et al.	Investigar la actividad antioxidante, citotóxica, antibacteriana y antimicótica in vitro y estudiar la curva tiempo-muerte del aceite esencial de naranja-jessamina y b-cariofileno, así como la composición química del aceite esencial.	Se determina una actividad antimicrobiana moderada para <i>Escherichia coli</i> con un valor MIC de 0,5 mg/mL y débil para <i>Staphylococcus aureus</i> con un valor MIC de 1,0 mg/mL.	Se observó una actividad antioxidante baja del aceite esencial.
Banothu V et al.	Evaluar las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de <i>A. odoratissima</i>	La actividad antimicrobiana más fuerte se observa llevando a cabo la extracción con metanol y acetato de etilo por separado.	Se determinó que el acetato de etilo tuvo el valor IC50 más bajo, seguido del metanol, el hexano y el cloroformo . La actividad antioxidante de estos extractos es mayor que la del BHT.
Zhang HY et al.	Determinar la composición química y las actividades antioxidantes, antimicrobianas y citotóxicas del aceite esencial de <i>Premna microphylla Turczaninow</i> .	Se obtiene una actividad antimicrobiana moderada con un valor MIC de 0.27 mg/mL para <i>Staphylococcus aureus</i> y 0.15 mg/mL para <i>Escherichia coli</i> .	El extracto de <i>Premna microphylla Turczaninow</i> no mostró una alta actividad antioxidante en comparación con BHT .

Bouyahya A et al.	Determinar la composición química de los aceites esenciales de <i>Mentha pulegium</i> L. y <i>Rosmarinus officinalis</i> L. y evaluar sus actividades antileishmanias, antibacterianas y antioxidantes.	Se observa un moderado efecto antibacteriano . Los valores MIC de <i>M. pulegium</i> fueron de 2 y 0,5 mg/mL para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> , respectivamente. De la misma forma los valores MIC de <i>R. officinalis</i> fueron de 2 y 1 mg/mL.	Se observó que los aceites esenciales de ambas especies fueron menos efectivos que los agentes antioxidantes sintéticos.
Lehbili M et al.	Determinar la actividad antibacteriana, antioxidante y citotóxica de los triterpenos y flavonoides de las partes aéreas de la <i>Salvia barrelieri</i> Etl.	Los resultados mostraron una buena actividad antimicrobiana para el extracto de etanol .	Los compuestos 10 (apigenin-7-O-β-d-glucuronopyranoside) y 12 (cinarósido) mostraron una actividad moderada de eliminación de radicales DPPH en comparación con el ácido ascórbico. Los otros cinco compuestos mostraron una actividad antirradical baja o nula.
Lamola SM et al.	Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos preparados a partir de bayas, hojas, corteza y raíces de la planta comestible <i>Grewia flava</i> .	La mayor actividad antibacteriana para <i>Staphylococcus aureus</i> procedía del extracto de la hoja usando acetona como solvente orgánico. La mayor actividad antibacteriana para <i>Escherichia coli</i> procedía tanto de las hojas como de las raíces usando indistintamente acetona o metanol .	Se determinó una mejor actividad antioxidante en los extractos de acetona procedentes de las raíces de <i>Grewia flava</i> .
Alizadeh Behbahani B et al.	Investigar las actividades antibacterianas y el análisis fitoquímico de los extractos de <i>Makhlaseh</i> contra el crecimiento de alguna cepa patógena causante de envenenamiento e infección.	La mayor actividad antimicrobiana se obtuvo mediante un extracto de etanol . Los valores que se obtuvieron fueron de 16 mg/mL <i>Escherichia coli</i> y de 8 mg/mL en <i>Staphylococcus aureus</i> .	La actividad antioxidante del extracto de etanol fue mayor que la del acuoso.
Gómez-Rivera A et al.	Evaluar la actividad antiinflamatoria, antibacteriana y antioxidante de los extractos orgánicos de las partes aéreas de la <i>Salvia sessei</i> Benth y de los isómeros de sesseína e isosesina aislados de ésta.	<i>Escherichia coli</i> es sensible al compuesto 1 (isosessein), mientras que el isómero 2 (sessein) mostraba actividad contra <i>Staphylococcus aureus</i>.	El extracto de SsD (<i>S. sessei</i> diclorometano) fue el que obtuvo mejor actividad antioxidante de los tres extractos de <i>S. sessei</i> .
Salem MZM et al.	El objetivo de este trabajo es identificar los componentes químicos y la bioactividad del aceite esencial (EO), el extracto de acetona (ACE) y el extracto de n-hexano (HexE) de los frutos maduros de <i>S. terebinthifolius</i> utilizando la GC-MS.	Se observó una óptima actividad antimicrobiana con valores MIC de 0,016 mg/mL para <i>Staphylococcus aureus</i> y de 0,5 mg/mL para <i>Escherichia coli</i> .	La actividad antioxidante de <i>Schinus terebinthifolius</i> fue mayor que la del ácido tánico pero menor que la de BHT .

Torres AR et al.	Investigar la composición química y las propiedades antioxidantes y antibacterianas de los extractos etanólicos de propóleos (EEP) de <i>Melipona quadrifasciata quadrifasciata</i> y <i>Tetragonisca angustula</i> .	La mayor actividad antimicrobiana encontrada hace referencia al extracto de <i>M. quadrifasciata quadrifasciata</i> frente ambos microorganismos.	El extracto de <i>M. quadrifasciata quadrifasciata</i> es diez veces mayor que el de <i>T. angustula</i>.
Gontijo DC et al.	Determinar la composición fitoquímica de un extracto acuoso de hojas de <i>Miconia latecrenata</i> y evaluar sus actividades antioxidantes, antibacterianas, antimutagénicas y antigenotóxicas.	Los valores óptimos de MIC de los extractos de las hojas de <i>Miconia latecrenata</i> fueron de entre 7 y 8 mg/mL para <i>Escherichia coli</i> y de 0,1 mg/mL para <i>Staphylococcus aureus</i> .	El valor de IC50 del extracto de hojas de <i>Miconia latecrenata</i> fue menor que el valor de referencia de BHT (hidroxitolueno butilado).
Badawy MEI et al.	Determinar las actividades antimicrobianas y antioxidantes de los hidrocarburos y monoterpenos oxigenados contra algunos patógenos de origen alimentario mediante estudios in vitro e in silico	El timol es el compuesto químico que mayor actividad antimicrobiana presenta. Aun así, se aleja mucho del antibiótico control (ceftriaxona).	Los resultados revelaron que todos los compuestos probados mostraron actividad antioxidante in vitro . El mirreno , la (R)-(+)-pulegona , el (1R)-(-)-mirtenal , el geraniol y el acetato de geraniol fueron los compuestos que presentaron mayor actividad antioxidante de los diferentes grupos.
Mphahlele RR et al.	Evaluar los efectos de la desecación en los compuestos bioactivos, antioxidantes, así como las actividades antibacterianas y antitirocinasas de la cáscara de granada.	El secado a 50°C mostró los resultados más relevantes con un valor MIC de 0,20 mg/mL en <i>Escherichia coli</i> y de 0,10 mg/mL en <i>Staphylococcus aureus</i> .	La mayor actividad antioxidante encontrada en la cáscara de granada fue la que se secó a 60°C .
Ghasemzadeh A et al.	El objetivo de este estudio es caracterizar el contenido fitoquímico e investigar la actividad antioxidante, anticancerígena y antibacteriana de las flores de <i>E. elatior</i> que crecen en tres zonas diferentes [Noreste (Kelantan), Centro (Pahang) y Sudeste (Johor)] de Malasia.	La mayor actividad antibacteriana observada en <i>Staphylococcus aureus</i> corresponde a <i>E. elatior</i> procedente de Pahang con un valor MIC de 30,0 µg/mL.	La mayor actividad antioxidante se observó en el extracto acuoso de <i>E. elatior</i> de Kelantan . Aun así, los tres extractos presentaron valores más altos de IC50 que el BHT y el α -tocoferol, por lo que presentan menor actividad antioxidante.

Actividad antimicrobiana

Según Holetz et al. 2002²⁹ y Neta et al. 2017⁶ los valores de CMI o MIC inferiores a 0,1 mg/mL representan una fuerte acción antimicrobiana; los valores entre 0,1 mg/mL y 0,5 mg/mL indican una actividad antimicrobiana moderada, los valores entre 0,5 y 1,0 mg/mL indican una acción débil y los valores superiores a 1,0 mg/mL una inacción.

Las acciones bacteriostáticas y bactericidas se obtienen de la relación entre la concentración letal y la concentración mínima inhibitoria (MBC/MIC). Prácticamente la mayoría de los estudios realizan la medición de estos dos valores, por lo que resulta sencillo obtener el valor relacionado con las acciones bacteriostáticas o bactericidas. Cuando el valor obtenido es menor a 4, el compuesto presenta una acción bactericida frente un determinado microorganismo. Por el contrario, cuando el valor es superior a 4, hablamos de una acción bacteriostática (impedir la reproducción de un microorganismo)⁶.

1. Jatropha gossypifolia L

Los resultados obtenidos en Okoh et al. 2016¹⁷ muestran que tanto los extractos procedentes del tallo como de la hojas de *Jatropha gossypifolia L* presentan una fuerte actividad antibacteriana frente *Staphylococcus aureus* (NCINB 50080) y *Escherichia coli* (ATCC 700728). Aun así, se observa una actividad antibacteriana ligeramente más fuerte de las hojas que la del extracto procedente del tallo. Los valores de MIC obtenidos para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en el extracto del tallo son 0,10 y 0,10 mg/mL y los obtenidos en el extracto de las hojas son 0,05 y 0,05 mg/mL, respectivamente.

Cabe destacar que a 0,10 mg/mL el SEO (extracto procedente de las hojas) era bactericida contra *Escherichia coli* mientras que el LEO (extracto procedente del tallo) era bacteriostático a la misma concentración.

2. Dennettia tripetala

En el presente estudio Okoh et al. 2016¹⁸ los resultados muestran una actividad antimicrobiana moderada de *Dennettia tripetala* en *Escherichia coli* (ATCC 700728) y *Staphylococcus aureus* (NCINB 50080) y se estudiaron aceites de frutos maduros e inmaduros. En los frutos inmaduros (UFO) se obtuvieron 0,15 y 0,10 mg/mL del valor de MIC en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Por otro lado, en los frutos maduros (RFO) se obtuvieron 0,20 y 0,15 mg/mL del valor de MIC en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

3. *Murraya paniculata*

Según Neta et al. 2017⁶ el aceite esencial de *Murraya paniculata* presenta una actividad antimicrobiana moderada para *Escherichia coli* (ATCC8739) y débil para *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), con valores de 0,5 y 1,0 mg/mL, respectivamente.

Además, se estudió la acción del β -cariofileno y se obtuvo que la actividad antibacteriana propia del aceite esencial no depende únicamente de su compuesto principal, sino que se produce por un efecto sinérgico entre sus compuestos.

Por último, se determinó que el aceite esencial presenta una acción bactericida frente las dos especies.

4. *Albizia odoratissima*

En el presente artículo Banothu et al. 2017⁴ se estudian las diferencias que provoca llevar a cabo la extracción de *Albizia odoratissima* usando diferentes solventes orgánicos como hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol.

Las actividades antimicrobianas más fuertes se observan llevando a cabo la extracción con metanol y acetato de etilo. El valor obtenido MIC en metanol fue de 0,14 y 0,27 mg/mL para *Staphylococcus aureus* (E40) y *Escherichia coli* (E72), respectivamente. En la extracción con acetato de etilo los valores MIC fueron 0,27 y 0,14 mg/mL. En la extracción con cloroformo los valores fueron 3,44 y 0,86 mg/mL y, por último, en la extracción con hexano los valores fueron 15 y 15 mg/mL,

Los extractos de los que se obtuvieron una actividad antibacteriana óptima fueron los de acetato de etilo y metanol. En contraposición, los extractos de cloroformo y hexano presentaron una actividad antimicrobiana muy débil.

5. *Premna microphylla Turczaninowii*

Los resultados obtenidos en el estudio de Zhang et al. 2017¹⁹ fueron óptimos. El aceite esencial de *Premna microphylla Turczaninow* presentó una moderada actividad antimicrobiana con 0.27 mg/mL para *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) y con 0.15 mg/mL para *Escherichia coli* (ATCC 25922).

6. *Mentha pulegium* y *Rosmarinus officinalis*

Los resultados obtenidos en el artículo de Bouyahya et al. 2017³ muestran que los aceites esenciales de *Mentha pulegium* y *Rosmarinus officinalis* mostraron un notable efecto antibacteriano con los valores más bajos de CMI contra *Staphylococcus aureus*

(MBLA), dado que esta es una cepa resistente a antibióticos, no podemos comparar estos resultados con los demás artículos. Por este motivo, se selecciona una cepa no resistente, como (CECT 994) para poder llevar a cabo la comparación. Por el contrario, se obtuvieron valores más elevados de MIC en *Escherichia coli* (K12).

Concretamente los valores MIC de *Mentha pulegium* fueron de 2 y 0,5 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, respectivamente. De la misma forma los valores MIC de *Rosmarinus officinalis* fueron de 2 y 1 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, respectivamente.

Rosmarinus officinalis presenta una acción bactericida para las dos bacterias. Sin embargo, *Mentha pulegium* presenta acción bactericida para *Staphylococcus aureus* y bacteriostática para *Escherichia coli*.

7. *Salvia barrelieri* Etl.

Los resultados del estudio de Lehbili et al. 2018²⁰ mostraron una buena actividad antimicrobiana frente *Staphylococcus aureus* (CIP 53.154) y *Escherichia coli* (CIP 54.127) para el extracto de etanol al 80% y una actividad más leve para el exudado en comparación con la gentamicina de referencia. Los resultados mostraron un alto efecto inhibidor del compuesto 10 (**apigenin-7-O- β -d-glucuronopyranoside**) contra *Escherichia coli* (MIC 31.2 μ g/mL) y el compuesto 12 (cinarósido) también fue activo contra esta bacteria (MIC 31.2 μ g/mL).

Los triterpenos del 1 al 6 (**3 β -acetoxo-olean-18-ene-2 α -ol** (1), **epi-germanidiol** (2), **olean-18-ene-1 β ,2 α ,3 β -triol** (3), **germanicol** (4), **ácido micromérico** (5), **ácido ursólico** (6)) eran menos activos en comparación con los flavonoides 10 y 12. El triterpeno 2 mostró también una buena actividad antibacteriana contra ambas bacterias probadas con un valor MIC de 62,5 μ g/mL para *Staphylococcus aureus* y 125 μ g/mL para *Escherichia coli*. Los compuestos 5 y 8 (**apigenin-7-O- β -d-glucuronopiranoside methyl ester**) mostraron una baja actividad antimicrobiana.

8. *Grewia flava*

En este artículo de Lamola et al. 2017²¹ se estudió la influencia del tipo de solvente orgánico y las diferentes partes de la *Grewia flava*. La mayor actividad antibacteriana para *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) procedía del extracto de la hoja usando acetona como solvente orgánico con un valor MIC de 0,03 mg/mL.

Por otro lado, la mayor actividad antibacteriana para *Escherichia coli* (ATCC 25922) procedía tanto de las hojas como de las raíces usando indistintamente acetona o metanol con un valor MIC de 0,07 mg/mL.

9. *Makhlaseh*

En el artículo de Alizadeh Behbahani et al. 2018⁸ se realizó el estudio de la actividad antimicrobiana realizando un extracto acuoso y uno en etanol, siendo este último el solvente óptimo para una mejor actividad antibacteriana. Los valores que se obtuvieron fueron de 16 mg/mL *Escherichia coli* (ATCC 25922) y de 8 mg/mL en *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

10. *Salvia sessei Benth*

La actividad antibacteriana de los extractos y compuestos se evaluó frente *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) en el estudio de Gómez-Rivera et al. 2018²². La primera fue sensible al compuesto 1 con un valor MIC de 12,5 µg/mL, mientras que el isómero 2 mostraba actividad contra *Staphylococcus aureus* con un valor MIC de 100 µg/mL.

11. *Schinus terebinthifolius*

Los valores que se obtuvieron en el estudio de Salem et al. 2018²³ fueron de 0,016 mg/mL para *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) y de 0,5 mg/mL para *Escherichia coli* (ATCC 35210).

12. *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* y *Tetragonisca angustula*

Los valores MIC de los dos extractos no aparecen de forma numérica sino en formato gráfico en el estudio de Torres et al. 2018². Claramente se observa que el extracto de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* presenta una mayor actividad antimicrobiana que *Tetragonisca angustula*, ya que presenta valores de MIC menores tanto para *Escherichia coli* (ATCC 25922) como para *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

13. *Miconia latecrenata*

En el estudio de Gontijo et al. 2019¹⁰ los valores de MIC de los extractos de hojas de *Miconia latecrenata* fueron de entre 7 y 8 mg/mL para *Escherichia coli* (24) y de un valor MIC mayor de 0,1 mg/mL para *Staphylococcus aureus* (ATCC 33 591).

14. Monoterpenos oxigenados e hidrocarburos

En el artículo de Badawy et al. 2019⁷ se estudia el papel antimicrobiano de diferentes monoterpenos oxigenados e hidrocarbonados, a excepción de los demás estudios. Este estudio sirve para poder identificar qué moléculas presentan un papel clave en la actividad antibacteriana.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 7 del Anexo 2.

El estudio se realizó contra *Escherichia coli* (ATCC 8739) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) en comparación con la ceftriaxona como agente antibacteriano estándar. Los resultados muestran que todos los compuestos probados presentan actividad antibacteriana. Sin embargo, la actividad fue menor que la droga estándar (CMI de ceftriaxona= 0,72 y 13,1 mg/L contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente).

15. Cáscara de granada

En el estudio de Mphahlele et al. 2016²⁴ se llevó a cabo la comparación de la actividad antimicrobiana de la cáscara de granada mediante la temperatura de secado de ésta. Las temperaturas fueron de 40, 50 y 60°C y liofilización y se usó como antibiótico de referencia la estreptomicina con un valor MIC de 0,02 mg/mL tanto para *Escherichia coli* como para *Staphylococcus aureus*.

Los valores obtenidos corresponden con un valor MIC para *Escherichia coli* de 0,39, 0,20, 0,20 y 0,39 mg/mL para la liofilización, secado a 40°C, 50°C y 60°C, respectivamente.

Los valores obtenidos referentes a *Staphylococcus aureus* corresponden a un valor MIC de 0,20, 0,20, 0,10 y 0,39 mg/mL para la liofilización, secado a 40°C, 50°C y 60°C, respectivamente.

El secado a 50°C mostró unos resultados óptimos, siendo los valores MIC los más bajos tanto para *Escherichia coli* (0,20 mg/mL) como para *Staphylococcus aureus* (0,10 mg/mL).

16. *Etlingera elatior*

En el estudio de Ghasemzadeh et al. 2015²⁵ los valores de MIC fueron estudiados en las diferentes ubicaciones en las que puede aparecer *Etlingera elatior*. El valor más pequeño y que hace referencia a una mayor actividad antibacteriana para *Staphylococcus aureus* fue el de *Etlingera elatior* procedente de Pahang con un valor

MIC de 30,0 µg/mL, seguido de Kelantain con un valor MIC de 40,0 µg/mL y, por último y, por tanto, con una actividad antimicrobiana más débil, Johor con un valor MIC de 60,0 µg/mL.

Los valores de MIC para *Escherichia coli* fueron significativamente diferentes a los de *Staphylococcus aureus* ya que tanto los extractos procedentes de Kelantan y Pahang presentan valores mayores a 100 µg/mL y en los de Johor no se observó actividad antibacteriana. Los extractos de *Etlingera elatior* procedente de Kelantain presenta los mejores valores de MIC (actividad antibacteriana).

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se mide mediante el valor IC₅₀ y cabe señalar que un valor de IC₅₀ más bajo representa una inhibición más potente de los radicales libres, los inhibidores de radicales libres fuertes son activos en concentraciones bajas³⁰.

1. Jatropha gossypifolia L

En el estudio de Okoh et al. 2016¹⁷ la actividad antioxidante de *Jatropha gossypifolia L* fue determinada por cuatro modelos diferentes de radicales usando DMSO como solvente de extracción, pero únicamente nos centraremos en los resultados de DPPH.

Según Okoh et al. 2016¹⁷ la técnica de DPPH no es una prueba específica de especies radicales, sino que sirve para determinar la potencia de eliminación de radicales en general de un antioxidante. Por lo tanto, para evaluar la precisa eficacia antirradical de LEO (extracto del tallo) y SEO (extracto de las hojas) de *Jatropha gossypifolia*, investigaron cuantitativa y cualitativamente la presunta propiedad antirradical usando un catión radical (ABTS^{•+}).

Los resultados mostraron que los extractos tanto de las hojas como del tallo son potencias antirradicales efectivas contra los diferentes oxidantes, lo que indica que son buenos donantes de electrones en las pruebas de DPPH y ABTS.

Para obtener los valores numéricos de las diferentes técnicas utilizadas, se debe llevar a cabo un análisis de regresión lineal para encontrar el valor IC₅₀.

Ambos aceites redujeron el DPPH[•] a una molécula DPPH-H neutra alcanzando una disminución del 50% con un valor IC₅₀ de 0,07 mg/mL para SEO mientras que el de LEO es de 0,32 mg/mL.

2. *Dennettia tripetala*

En el artículo de Okoh et al. 2016¹⁸ se llevan a cabo cuatro técnicas de determinación de la actividad antioxidante, pero nos centraremos en los resultados de las técnicas DPPH y ABTS.

Tanto UFO (extracto de fruto inmaduro) como RFO (extracto de fruto maduro) mostraron valiosos efectos en lo que a eliminación de radicales se refiere.

En la primera el efecto inhibitorio de los dos aceites UFO y RFO fue más fuerte que el de referencia (en este caso, vitamina C) en todas las concentraciones. Pero cuando se comparó con el β -caroteno, se obtuvieron resultados similares. Los valores de IC50 fueron de $0,87 \pm 0,23$ mg/mL para el UFO y $0,62 \pm 0,12$ mg/mL para el RFO inferiores a la vitamina C con un valor de IC50 $3,39 \pm 0,12$ mg/mL y similares al β -caroteno con IC50 de $0,32 \pm 0,22$ mg/mL.

3. *Murraya paniculata*

En el artículo de Neta et al. 2017⁶ la capacidad de eliminación de radicales libres de *Murraya paniculata* y β -cariofileno se evaluó mediante las técnicas DPPH y ABTS únicamente usando metanol como solvente de extracción.

En el método DPPH se observó una actividad antioxidante baja con un valor de IC50 de $0,24 \pm 12$ mg/mL.

4. *Albizia odoratissima*

En el artículo de Banothu et al. 2017⁴ se realizó el estudio de la actividad antioxidante de *Albizia odoratissima* comparando diferentes solventes orgánicos (hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol) mediante los métodos DPPH y ABTS.

Con el método DPPH se obtuvo que el acetato de etilo tuvo el valor IC50 más bajo ($10,96 \pm 0,40$ μ g/mL), seguido del metanol ($16,62 \pm 0,85$ μ g/mL), el hexano ($1810,44 \pm 13,50$ μ g/mL) y el cloroformo ($3439,66 \pm 33,56$ μ g/mL).

Además, los valores IC50 de los extractos de metanol y de acetato de etilo fueron similares y comparables a los del ácido ascórbico usado como control ($6,11 \pm 0,44$ μ g/mL) pero inferiores a los del BHT ($458,10 \pm 33,09$ μ g/mL), lo que sugiere que la actividad antioxidante de estos extractos es mayor que la del BHT.

Con el método ABTS se obtuvo que el valor de IC₅₀ de acetato de etilo ($4,35 \pm 0,07$ µg/mL) fue el más bajo, seguido del metanol ($8,59 \pm 0,39$ µg/mL), hexano ($52,08 \pm 1,26$ µg/mL) y cloroformo ($58,81 \pm 3,69$ µg/mL).

El valor IC₅₀ del extracto de acetato de etilo fue muy similar al del ácido ascórbico ($3,65 \pm 0,26$ µg/mL) e inferior al del BHT ($6,57 \pm 0,57$ µg/mL), lo que indica que el extracto de acetato de etilo tiene una fuerte actividad antioxidante.

5. *Premna microphylla Turczaninovii*

En el estudio de Zhang et al. 2017¹⁹ el efecto antioxidante del aceite esencial se comparó con el del BHT (butilhidroxitolueno) estándar mediante el método DPPH expresado como valor IC₅₀ que fue de 0,451 mg/mL para *P. microphylla* frente a 0,067 mg/mL para BHT. Por lo tanto, el aceite no mostró una alta actividad antioxidante en comparación con BHT.

6. *Mentha pulegium* y *Rosmarinus officinalis*

En el artículo de Bouyahya et al. 2017³ la actividad antioxidante de *Mentha pulegium* y *Rosmarinus officinalis* en (citar artículo) se determinó mediante el método DPPH y reducción de hierro usando como solvente de extracción metanol. Únicamente nos centraremos en los resultados obtenidos con el primer método comparado con dos antioxidantes sintéticos estándares como son el ácido ascórbico y el Trolox.

Se observó que los aceites esenciales de ambas especies fueron menos efectivos que los agentes antioxidantes sintéticos con un valor de IC₅₀ para *Mentha pulegium* de $321,41 \pm 2,53$ µg/mL y para *Rosmarinus officinalis* de $523,41 \pm 8,25$ µg/mL. Además, el poder reductor de los aceites esenciales de las dos especies aumentó con el incremento de sus concentraciones.

7. *Salvia barrelieri* Etl.

En el estudio de Lehbili et al. 2018²⁰ únicamente el extracto de etanol al 80% mostró actividad de eliminación de radicales DPPH (IC₅₀ 50.1 µg/mL). Posteriormente, se repitió la prueba para los compuestos del 7 al 12 (**salvigenina** (7), **apigenin-7-O-β-d-glucuronopiranoside methyl ester** (8), **apigenin-7-O-β-d-glucopyranoside** (9), **apigenin-7-O-β-d-glucuronopyranoside** (10), **apigenina** (11) y **cinarósido** (12)) aislados de este extracto. Los compuestos 10 y 12 mostraron una actividad moderada de eliminación de radicales DPPH (IC₅₀ 79.1 y 21.2 µg/mL, respectivamente) en

comparación con el ácido ascórbico de referencia (IC₅₀ 11.2 µg/mL). Los otros cinco compuestos mostraron una actividad antirradical baja o nula.

8. *Grewia flava*

En el estudio de Lamola et al. 2017²¹ los valores obtenidos mediante el método DPPH usando metanol como solvente de extracción, revelaron una mejor actividad antioxidante en los extractos de acetona procedentes de las raíces con un valor IC₅₀ de 70,09 µg/mL.

Sin embargo, esta actividad fue menor que la del ácido ascórbico usado como control (valor IC₅₀ de 9,14 µg/mL).

9. *Makhlaseh*

En el artículo realizado por Alizadeh Behbahani et al. 2018⁸ la actividad antioxidante se midió mediante el método DPPH usando extractos acuosos y etanólicos de *Makhlaseh*. Los resultados son de 315,50 ± 1,12 µg/mL para el extracto acuoso y de 118,35 ± 1,08 µg/ml para el etanólico.

10. *Salvia sessei Benth*

El estudio realizado por Gómez-Rivera et al. 2018²² mostró que en el ensayo DPPH, el extracto de SsD (*Salvia sessei* diclorometano) fue el que obtuvo mejor actividad de los tres extractos de *Salvia sessei* (3313,39 ± 20,79 µg/mL), exhibiendo un valor de IC₅₀ 1,7 veces mayor en comparación con el extracto IC₅₀ del extracto de *Camellia sinensis* (1961,80 ± 30,91 µg/mL), de referencia y el que exhibió mayor actividad.

A pesar de esto, en el ensayo ABTS, el extracto de SsM (*Salvia sessei* metanol 1,34 ± 0,03 µg/mL), presentó la mayor capacidad antioxidante, excediendo en el extracto de *Camellia sinensis* (14,24 ± 0,04 µg/mL), que tenía un IC₅₀ 10,6 mayor en DPPH.

11. *Schinus terebinthifolius*

En el estudio de Salem et al. 2018²³ los valores obtenidos de IC₅₀ del aceite esencial de *Schinus terebinthifolius* mediante la técnica DPPH fueron de 15,11±0,99 µg/mL, en comparación con el IC₅₀ del ácido tánico (23,83±1,9 µg/mL) y el BHT (2,9 ± 0,1 µg/mL), que fueron los valores de referencia.

12. *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* y *Tetragonisca angustula*

Los resultados del estudio de Torres et al. 2018² muestran que ambos EEP tenían una actividad antioxidante dependiente de la dosis. Además, el EEP de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (IC₅₀= 241,8 mg/mL) era diez veces más potente que el EEP de *Tetragonisca angustula* (IC₅₀= 2433,0 mg/mL).

13. *Miconia latecrenata*

En el estudio de Gontijo et al. 2019¹⁰ se determinó la actividad antioxidante mediante la técnica DPPH usando metanol como solvente de extracción. Los valores de IC₅₀ del extracto de hojas de *Miconia latecrenata* fueron de 1.1 ± 0.7 µg/mL, menor que el valor de referencia de BHT (hidroxitolueno butilado) que fue de 2.6 ± 0.2 µg/mL.

14. Monoterpenos oxigenados e hidrocarbonados

En el artículo de Badawy et al. 2019⁷ el estudio de la actividad antioxidante de los monoterpenos oxigenados y los hidrocarburos se comparó con α -tocoferol como agente antioxidante estándar. Los resultados revelaron que todos los compuestos probados mostraron actividad antioxidante in vitro.

Entre el grupo de los **hidrocarburos**, el mirceno fue el agente antioxidante más fuerte con IC₅₀ de 22,13 mg/L seguido por (R)-(+)-limoneno y 3-carano (IC₅₀=291,8 y 297,7 mg/L, respectivamente). Sin embargo, el canfeno, α -pineno y β -cimeno fueron los compuestos activos más bajos con IC₅₀ de 868, 880 y 916 mg/L, respectivamente.

Para las **cetonas**, la (R)-(+)-pulegona fue el compuesto más efectivo con IC₅₀ de 218 mg/L. Por otro lado, El alcanfor y la mentona exhibieron la menor actividad con IC₅₀ de 1101 y 1217 mg/L, respectivamente.

En el grupo de los **aldehídos**, (1R)-(-)-mirtanal reveló una acción efectiva con IC₅₀ de 285 mg/L, mientras que el citral fue el activo más bajo con IC₅₀ de 1052 mg/L.

Entre los **alcoholes**, el geraniol fue el antioxidante más persuasivo con IC₅₀ de 19 mg/L seguido en orden descendente por el timol (IC₅₀=31 mg/L). Sin embargo, el (-)-mentol era el compuesto activo más bajo (IC₅₀=1047 mg/L).

Para el grupo de los **acetatos**, el acetato de geranilo presentó la mayor actividad (IC₅₀=534 mg/L) seguido en orden descendente por acetato de eugenilo y α -terpinil acetato (IC₅₀=606 y 646 mg/L, respectivamente). En cambio, el acetato de canela mostró menos acción con IC₅₀ de 1067 mg/L.

Los resultados de todos los compuestos se muestran en la tabla 8 del Anexo 3.

15. Cáscara de granada

En el artículo de Mphahlele et al. 2016²⁴ se determinó la actividad antioxidante mediante el método DPPH y FRAP usando como solvente de extracción el metanol. La mayor actividad antioxidante encontrada en la cáscara de granada fue la que se secó a 60°C y además coincide con una elevada concentración de diferentes compuestos como son la punicalina, catequina, epicatequina y compuestos de rutina.

16. *Etlingera elatior*

En el artículo realizado por Ghasemzadeh et al. 2015²⁵ el estudio de la actividad antioxidante de *Etlingera elatior* se llevó a cabo en las diferentes ubicaciones de esta especie y el tipo de solvente que se usó para llevar a cabo la extracción. Donde los extractos acuosos mostraron una mayor actividad antioxidante que los de etanol, es por este motivo por el cual nos centramos únicamente en los extractos acuosos.

La mayor actividad antioxidante se observó en el extracto acuoso de *Etlingera elatior* de Kelantan, seguido de las muestras de Pahang y Johor con valores de IC50 de 34,5, 44,6 y 52,9 µg/mL, respectivamente. Se compararon con el BHT, con un valor de IC50 de 19,7 µg/mL y el α-tocoferol, con un valor de IC50 de 12,6 µg/mL.

Discusión

Actividad antimicrobiana

En cuanto a la comparación de la actividad antimicrobiana de los diferentes productos naturales se han usado diferentes extractos de una misma especie o diferentes especies como en el caso de Okoh et al. 2016¹⁷ donde la extracción procedente del tallo muestra mejores resultados, en Okoh et al. 2016¹⁸ el extracto del fruto inmaduro presenta una mayor actividad antimicrobiana que el maduro. Los resultados obtenidos en Bouyahya et al. 2017³ tanto en *Mentha pulegium* como en *Rosmarinus officinalis* concuerdan y difieren en algunos estudios ya publicados. Por ejemplo, la actividad antimicrobiana de *Mentha pulegium* concuerda con Mahboubi et al. 2008³¹ pero difiere con los resultados expuestos en Cherrat et al. 2014³² donde se obtiene actividad antimicrobiana menos eficaz. Por otro lado, los resultados del estudio del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* concuerdan con los expuestos en Talbaoui, et al. 2012³³ pero, sin embargo, se obtiene una actividad antibacteriana menos eficaz que en Wang et al. 2012³⁴. En el estudio de Torres et al. 2018² se determina que la mayor actividad antimicrobiana pertenece al propolis de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*. Según Ghasemzadeh

et al. 2015²⁵ una de las hipótesis que se tienen actualmente es que la actividad antimicrobiana depende de la zona geográfica en la que se cultiven los diferentes productos naturales.

Cabe destacar que las diferencias encontradas en los diferentes extractos procedentes de una misma especie o de diferentes partes de una misma especie, reside en la variabilidad en la composición química que está estrechamente relacionada con el solvente que se use para llevar a cabo la extracción, como ocurre en Banothu et al. 2017⁴ donde la mayor actividad antimicrobiana encontrada pertenece a los extractos realizados con acetato de etilo y metanol.

Respecto la actividad antimicrobiana frente bacterias gram-negativas y gram-positivas, la gran mayoría de los resultados obtenidos en los diferentes estudios muestran una actividad antimicrobiana óptima frente las dos bacterias en cuestión, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Aun así, ha habido una notable mayor actividad inhibitoria en las bacterias gram-positivas. Este hecho puede deberse a que las bacterias gram-positivas no presentan la membrana celular externa observada en bacterias gram-negativas y que actúa como barrera física entre el microorganismo y el exterior debido a la composición de lipopolisacáridos hidrofílicos dificultando la interacción con las moléculas antimicrobianas normalmente de carácter hidrófobo^{17,18}.

El mecanismo de acción según Tariq et al. 2019³⁵ consiste en una desestabilización celular propiciando la degradación de la membrana aumentando su permeabilidad. De esta forma se interrumpen muchos procesos celulares como la producción de energía, el transporte transmembranal y la respiración, esto promueve la pérdida de iones, de componentes celulares y la reducción de síntesis de ATP⁷.

En Neta et al. 2017⁶ se añade la importancia de realizar otras mediciones como las curvas tiempo-muerte para obtener los valores de actividad antimicrobiana a lo largo del tiempo y no únicamente en un momento específico con el valor MIC que presenta una elevada variabilidad. Además, los resultados del estudio indican que las diferencias en la membrana externa y en la pared celular de bacterias gram-positivas y gram-negativas no es un factor determinante en la actividad antimicrobiana del aceite esencial. Este hecho difiere de la gran mayoría de artículos como Tariq et al. 2019³⁵, en Okoh et al. 2016¹⁷ y en Heidari Sureshjani et al. 2014³⁶ donde se demuestra que la membrana externa sí que está relacionada con la efectividad de los extractos de los productos naturales.

La composición química relacionada e involucrada en la actividad antimicrobiana según Shan et al. 2007³⁷ aproxima que los compuestos que promueven la actividad antimicrobiana son los fenoles, los taninos y los flavonoides, entre otros³⁸.

Además, según Zhang et al. 2017¹⁹ la acción antimicrobiana de estos compuestos químicos depende de la concentración en la que se encuentren; a bajas concentraciones interfieren con las enzimas vinculadas a la síntesis de ATP y a altas puede inducir la desnaturalización de proteínas. En Jouki et al. 2014³⁹ se atribuye la capacidad de permeabilizar la membrana externa de las bacterias gram-negativas al carvacol y al timol por lo que aquellos productos naturales que presenten grandes concentraciones de dichos compuestos presentarán una mayor actividad antimicrobiana en bacterias gram-negativas. Otra molécula que se relaciona con este mecanismo de acción es el totarol⁴⁰. Algunos compuesto fenólicos como el timol, el eugenol y el carvacol fueron altamente activos frente diferentes bacterias gram-positivas y gram-negativas, en estas últimas en mayor número de especies diferentes. No únicamente el grupo hidroxilo desempeña un papel clave en la actividad antimicrobiana, la posición relativa de éste también.

En Badawy et al. 2019⁷ los grupos aldehídos y fenoles como por ejemplo, los nombrados anteriormente además del cinamaldehído y el citral son los que propician una mayor actividad antimicrobiana seguido de los alcoholes terpénicos. Esta mayor actividad puede ser debido a la sustitución del alquilo en el núcleo del compuesto fenólico. Por otra parte, compuestos como cetonas o ésteres como β -mirceno y acetato de geranilo presentaron una menor actividad antimicrobiana.

Cabe destacar que según Medina-Franco et al. 2012⁴¹ estos monoterpenos procedentes de productos naturales no presentan un peligro para la sociedad y son seguros tanto para la salud humana como para el medioambiente.

Además de la concentración de los diferentes compuestos, la sinergia entre los componentes principales y secundarios para obtener una fuerte actividad antimicrobiana también es crucial tal y como se comenta en Burt et al. 2004⁴² donde existe una sinergia entre el carvacol y el p-cimeno y entre el cinamaldehído y el eugenol.

Actividad antioxidante

Uno de los principales temas de discusión en los estudios seleccionados está relacionado con la especificidad del método DPPH. Esta no es una técnica específica de especies radicales, sino que únicamente evalúa la capacidad antioxidante general del producto. Debido a esto, es de gran interés suplementar los ensayos experimentales con los métodos LP, NO y ABTS para determinar la actividad antirradical específica.

Otra punto a evaluar es el solvente con el que se lleva a cabo la extracción. En Banothu et al. 2017⁴ de entre los cuatro extractos de metanol, hexano, cloroformo y acetato de etilo, éste último es el que presenta una mayor actividad antioxidante y se intuye que esto es debido al aumento de los niveles de polifenoles. En contraposición, según Ghasemzadeh et al. 2015²⁵ los extractos acuosos presentan una mayor actividad antioxidante que los realizados con etanol. Estos extractos acuosos presentan una mayor cantidad de flavonoides, fenoles y taninos. El tipo de solvente que se utiliza en la extracción, así como la polaridad y la viscosidad interviene en la actividad antioxidante del compuesto. Los que presentan una baja viscosidad tienen una alta difusividad necesaria para difundirse por los poros de las membranas⁴³.

Respecto la composición química relacionada con la actividad antioxidante, algunos compuestos químicos propios del aceite proporcionan propiedades bioactivas como el mentol que presenta una actividad antioxidante, antimicrobiana y antiinflamatoria elevada. En Rozza et al. 2014⁴⁴ se investigaron estas propiedades en úlceras gástricas en ratas y se concluyó que el tratamiento con mentol había presentado una actividad gastroprotectores a través de mecanismos antioxidantes, antiapoptóticos y antiinflamatorios.

Por otro lado, el limoneno presenta efectos antitumorales y antimetastásicos, entre otros. Tal y como se muestra en Chaudhary et al. 2012⁴⁵, la piel de los ratones tratados con D-limoneno reducen de forma significativa el edema (acumulación de líquido en el espacio extracelular) y la hiperplasia (aumento anormal en el tamaño de un órgano). Además, en un estudio se determinó que el D-limoneno reducía la carga tumoral. Concluyeron que esta molécula puede presentar acción quimiopreventiva ya que inhibe la inflamación y reduce el estrés oxidativo.

En Okoh et al. 2016¹⁸ se determina que los componentes bioactivos que se encuentran en mayor concentración son los terpenoides como el p-cimeno, cariofileno y linalol con la particularidad que, tanto monoterpenoides como sesquiterpenoides, son más abundantes en los extractos de los frutos maduros. Otros estudios apoyan el hecho de que estas moléculas son componentes bioactivos de los aceites esenciales como ocurre en Hyldgaard et al. 2012¹³, en Pereira et al. 2018⁴⁶.

Otras moléculas relacionadas con la bioactividad son el α -terpineno, canfeno, α -pineno y que, se intuye pueden haber aumentado las actividades antioxidantes y antimicrobianas tal y como se muestra en Vallianou et al. 2011⁴⁷ y en Aydin et al. 2013⁴⁸.

En la bibliografía se determina que los compuestos que proporcionan una mayor actividad antioxidante son los monoterpenos con anillos aromáticos unidos a grupos

hidroxilo. Los principales componentes del aceite esencial de *Murraya paniculata* son los sesquiterpenos que no presentan grupos hidroxilo⁴⁹. De esta forma se justifica el bajo potencial antioxidante del aceite esencial encontrado en Okoh et al. 2016¹⁸.

En Banothu et al. 2017⁴ se determina que los extractos poseen una gran variedad de compuestos fenólicos y flavonoides que propician la actividad antioxidante^{50,51}.

En Okoh et al. 2016¹⁷ se determina que a medida que aumenta la concentración del extracto del producto natural, aumenta la actividad antioxidante. En este estudio se observa mayor actividad en el extracto de las hojas que en el tallo y los estándares de referencia, β -caroteno y vitamina C. Aun así, ambos extractos muestran una eficaz actividad antioxidante ya que son buenos donantes de electrones en el método DPPH.

En Zhang et al. 2017¹⁹ la actividad antioxidante de los extractos de *Premna microphylla Turczaninow* que se encontró en el estudio fue débil probablemente debido a la gran cantidad de compuestos que forman una mezcla compleja propia del aceite esencial. Los compuestos encontrados en mayor abundancia fueron el limoneno, el blumenol C y el β -cedreno. Aun así, según Vieira et al. 2018⁵², el limoneno presenta una fuerte actividad antioxidante en la prueba DPPH.

En Bouyahya et al. 2017³ las muestras de aceite esencial de *Mentha pulegium* presentan un efecto antioxidante mayor a elevadas concentraciones mientras que la actividad en *Rosmarinus officinalis* fue mayor a bajas concentraciones. Aun así, fueron menos efectivos que los antioxidantes sintéticos usados como control. La variación de la actividad antioxidante se justifica por la diferencia en la composición química de ambos productos naturales. Esta actividad está determinada por la polaridad, los grupos funcionales y el comportamiento de los compuestos químicos.

En Alizadeh Behbahani et al. 2018⁸ se explica que la actividad antioxidante y la composición total fenólica dependen del clima, el suelo y la altitud, entre otros tal y como se muestra en Behbahani et al. 2017⁵³.

En Gómez-Rivera et al. 2018²² la fuerte actividad antioxidante del aceite esencial de *Salvia sessei* extraído con diclorometano podría deberse a la composición polifenólica, de flavonoides y terpenoides.

En Torres et al. 2018² se determina que la capacidad antioxidante del propóleo depende de la especie y el género al que pertenezcan las abejas, mostrando una mayor actividad antioxidante el propóleo de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*. Además, ésta presentaba una mayor cantidad de fenoles y flavonoides totales.

La actividad antioxidante según Gontijo et al. 2019¹⁰ se ve incrementada por la presencia de taninos, como los elagitaninos o ácidos elágicos. Estos contienen diferentes grupos funcionales hidroxilos que estabilizan los componentes ROS⁵⁴.

Los fenoles son unos de los compuestos que mayor actividad antioxidante presentan, en concreto algunos hidrocarburos como el terpinoleno y α - y γ -terpineno. Por otro lado, los sesquiterpenos y los compuestos no isoprenoides presentaron una baja actividad antioxidante⁷.

Conclusiones

Los productos naturales han sido usados ampliamente en la medicina tradicional desde tiempo atrás. Por ello y por la resistencia generada por parte de los microorganismos hacia los antibióticos sintéticos, se quieren introducir en la medicina moderna. Constituyen una gran fuente antioxidante y antimicrobiana y son de fácil obtención y acceso.

La relación que se encuentra en las actividades antimicrobiana y antioxidante puede recaer sobre la composición química de los productos naturales. Fenoles, terpenos, flavonoides y taninos son un ejemplo de ello. Aun así, el poder antioxidante y antibacteriano no son proporcionalmente directos o dependientes, una fuerte actividad antioxidante no necesariamente implica una fuerte actividad antimicrobiana y viceversa.

Además, se ha demostrado que las bacterias gram-positivas son más susceptibles al poder antimicrobiano de los diferentes productos naturales por lo que se concluye que la presencia o ausencia de la pared externa propia de las bacterias gram-negativas, es un factor determinante a la hora de evaluar el poder antimicrobiano.

Cabe destacar que no únicamente estos productos se usan como antibacterianos sino también como antifúngicos como ocurre en Badawy et al. 2019⁷, como antiinflamatorios y antivirales, entre otros. Algunos aceites esenciales se pueden usar para inhibir algunas bacterias que presentan resistencia a ciertos antibióticos sintéticos según Tariq et al. 2019³⁵. Los extractos también sirven para la preservación de alimentos y actualmente es un campo de estudio en expansión en el que muchos investigadores están centrando sus estudios¹³.

Agradecimientos

Agradecer a mi tutora del trabajo de final de grado Magdalena Constantí por darme la oportunidad de formar parte de su equipo, aunque finalmente no se pudo llevar a cabo debido a la situación excepcional que vivimos a principios de marzo y que se alargó durante aproximadamente tres meses. Siempre me dio ánimos para volver al laboratorio y realizar de forma práctica este trabajo. Además, aceptó todas mis propuestas y cambios referentes a la revisión bibliográfica y me dio su opinión de forma sincera.

A mi familia por apoyarme y animarme a seguir buscando información y contrastar todos los datos obtenidos para realizar un trabajo con esfuerzo y de forma cuidadosa.

A mi pareja por animarme y resolver cualquier tipo de duda que me surgió relacionada con la parte química del trabajo y por enseñarme a dibujar las moléculas necesarias en cada momento.

Limitaciones

La realización del presente trabajo ha presentado algunas limitaciones. Una de las primeras ha sido el uso de diferentes cepas tanto de *Escherichia coli* como de *Staphylococcus aureus* en los 16 trabajos seleccionados. Realmente se desconoce el impacto que puede producir el uso de cepas diferentes en los ensayos experimentales. Por lo tanto, en futuros estudios e investigaciones, sería de gran interés realizar la comparación únicamente de una misma cepa de cada especie.

Además, en la determinación de la actividad antioxidante de los productos naturales, los solventes con los que se realizaban las extracciones fueron diferentes en la mayoría de los estudios, por lo que tampoco se conoce el impacto que puede producir esta variación. Lo que sí se conoce hoy en día y tal y como se ha nombrado en la discusión, el tipo de solvente usado en la extracción influye en las características antioxidantes del producto por lo que la comparación de la actividad antioxidante debería llevarse a cabo con el mismo tipo de solvente a la hora de llevar a cabo la extracción.

Otra de las limitaciones encontradas a lo largo de la realización del trabajo ha sido el uso de diferentes métodos específicos de determinación de la actividad antioxidante. Todos los artículos seleccionados usaron el método DPPH para medir el poder de eliminación de radicales libres de manera general, pero a la hora de determinarlo específicamente, cada estudio llevaba a cabo un método diferente como ABTS, NO o LP. Por este motivo, la comparación no ha sido lo más exhaustiva posible. En futuras

revisiones bibliográficas se debe tener en cuenta la evaluación específica de la actividad antioxidante mediante el uso de la misma técnica.

El procesamiento de los resultados numéricos es diferente en la mayoría de los artículos seleccionados. Es cierto que en prácticamente todos se llevan a cabo los experimentos por triplicado, pero algunos no introducen la desviación estándar, por lo que no se puede llegar a determinar con exactitud el error producido.

Por último, en la discusión encontramos diferentes artículos cuyos resultados no coinciden con los obtenidos en los 16 estudios seleccionados por lo que se debería averiguar cuál es el motivo de las diferencias. Estas pueden ser debidas al uso de diferentes cepas, diferentes solvente orgánicos, el uso de concentraciones de producto natural a evaluar diferentes a las de los 16 estudios seleccionados o incluso el uso de otras técnicas en la determinación tanto de la extracción del aceite esencial, en la determinación de la actividad antioxidante y en la determinación de la actividad antimicrobiana.

Autoevaluación

La presente revisión bibliográfica ha resultado ser todo un reto personal. El primer propósito por el cual quería llevar a cabo este estudio era investigar qué factores eran los que determinaban las actividades antioxidante y antimicrobiana y ver qué relación tenían la una con la otra. Ha sido una gran experiencia académica ya que he podido llegar a entender muchos aspectos que antes no acababa de comprender, todo gracias al trabajo que han llevado a cabo los investigadores y de la forma en que han plasmado sus conocimientos en los artículos.

Este trabajo ha aumentado mi capacidad de adaptación a los constantes cambios que ha habido desde el mes de marzo y, además, ha sabido mostrar mi parte más inquieta y curiosa respecto el tema del presente trabajo.

Personalmente considero que el ámbito de los productos naturales debería ser mucho más popularizado y conocido por la sociedad, ya que desempeñan un gran papel no únicamente a nivel médico, como hemos podido observar en esta revisión bibliográfico, sino también en la industria de los aromas y de la preservación de alimentos de consumo humano, entre otros.

Bibliografía

Bibliografía de documentos e imágenes

1. Lim, A. *et al.* Plant Phenols as Antibiotic Boosters: In Vitro Interaction of Olive Leaf Phenols with Ampicillin. *Phyther. Res.* **30**, 503–509 (2016).
2. Torres, A. R. *et al.* Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees. *Brazilian J. Med. Biol. Res. = Rev. Bras. Pesqui. medicas e Biol.* **51**, e71118 (2018).
3. Bouyahya, A. *et al.* Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Microb. Pathog.* **111**, 41–49 (2017).
4. Banothu, V., Neelagiri, C., Adepally, U., Lingam, J. & Bommareddy, K. Phytochemical screening and evaluation of in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the indigenous medicinal plant *Albizia odoratissima*. *Pharm. Biol.* **55**, 1155–1161 (2017).
5. Al-Mamun, M. A. *et al.* Characterization and evaluation of antibacterial and antiproliferative activities of crude protein extracts isolated from the seed of *Ricinus communis* in Bangladesh. *BMC Complement. Altern. Med.* **16**, (2016).
6. Neta, M. C. S. *et al.* Effects of β -caryophyllene and *Murraya paniculata* essential oil in the murine hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time-kill curve studies. *Pharm. Biol.* **55**, 190–197 (2017).
7. Badawy, M. E. I., Marei, G. I. K., Rabea, E. I. & Taktak, N. E. M. Antimicrobial and antioxidant activities of hydrocarbon and oxygenated monoterpenes against some foodborne pathogens through in vitro and in silico studies. *Pestic. Biochem. Physiol.* **158**, 185–200 (2019).
8. Alizadeh Behbahani, B. & Imani Fooladi, A. A. Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition Makhleseh extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microb. Pathog.* **114**, 204–208 (2018).
9. Dharmaratne, M. P. J. *et al.* Terminalia bellirica fruit extracts: In-vitro antibacterial activity against selected multidrug-resistant bacteria, radical scavenging activity and cytotoxicity study on BHK-21 cells. *BMC Complement. Altern. Med.* **18**, (2018).
10. Gontijo, D. C. *et al.* Antioxidant study indicative of antibacterial and antimutagenic activities of an ellagitannin-rich aqueous extract from the leaves of *Miconia latecrenata*. *J. Ethnopharmacol.* **236**, 114–123 (2019).
11. de Camargo, A. C. *et al.* Phenolic acids and flavonoids of peanut by-products: Antioxidant capacity and antimicrobial effects. *Food Chem.* **237**, 538–544 (2017).
12. Bajpai, V. K. *et al.* Antioxidant and antimicrobial efficacy of a biflavonoid, amentoflavone from *Nandina domestica* in vitro and in minced chicken meat and apple juice food models. *Food Chem.* **271**, 239–247 (2019).
13. Hyldgaard, M., Mygind, T. & Meyer, R. L. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front. Microbiol.* **3**, (2012).
14. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations - PubMed. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11420333/>. (Accessed: 24th June 2020)
15. Deusto, B. U. de. Bibliogúas Deusto: Journal Citation Reports: Factor de Impacto.
16. Calidad de las publicaciones: Factor de impacto e índices de evaluación | Biblioteca Universitaria. Available at: <https://biblioteca.unileon.es/servicios/servicios-para-profesores/factor-de-impacto>. (Accessed: 25th June 2020)
17. Okoh, S. O., Iweriebor, B. C., Okoh, O. O., Nwodo, U. U. & Okoh, A. I. Antibacterial and Antioxidant Properties of the Leaves and Stem Essential Oils of *Jatropha gossypifolia* L. *Biomed Res. Int.* **2016**, 9392716 (2016).
18. Okoh, S. O., Iweriebor, B. C., Okoh, O. O., Nwodo, U. U. & I. Okoh, A. Bactericidal and antioxidant properties of essential oils from the fruits *Dennettia tripetala* G. Baker. *BMC Complement. Altern. Med.* **16**, (2016).

19. Zhang, H. Y., Gao, Y. & Lai, P. X. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of essential oil from *Premna microphylla turczaninow*. *Molecules* **22**, (2017).
20. Lehibili, M. *et al.* Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities of triterpenes and flavonoids from the aerial parts of *Salvia barrelieri* Etl. *Nat. Prod. Res.* **32**, 2683–2691 (2018).
21. Lamola, S. M., Dzoyem, J. P., Botha, F. & Van Wyk, C. Anti-bacterial, free radical scavenging activity and cytotoxicity of acetone extracts of *Grewia flava*. *Afr. Health Sci.* **17**, 790–796 (2017).
22. Gómez-Rivera, A., González-Cortazar, M., Herrera-Ruiz, M., Zamilpa, A. & Rodríguez-López, V. Sessein and isosessein with anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant activity isolated from *Salvia sessei* Benth. *J. Ethnopharmacol.* (2018). doi:10.1016/j.jep.2018.02.012
23. Salem, M. Z. M. *et al.* Antibacterial activity of extracted bioactive molecules of *Schinus terebinthifolius* ripened fruits against some pathogenic bacteria. *Microb. Pathog.* **120**, 119–127 (2018).
24. Mphahlele, R. R., Fawole, O. A., Makunga, N. P. & Opara, U. L. Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel. *BMC Complement. Altern. Med.* **16**, (2016).
25. Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., Rahmat, A. & Ashkani, S. Secondary metabolites constituents and antioxidant, anticancer and antibacterial activities of *Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm grown in different locations of Malaysia. *BMC Complement. Altern. Med.* **15**, (2015).
26. Prevc, T., Šegatin, N., Poklar Ulrih, N. & Cigić, B. DPPH assay of vegetable oils and model antioxidants in protic and aprotic solvents. *Talanta* **109**, 13–19 (2013).
27. Grela, E., Kozłowska, J. & Grabowiecka, A. Current methodology of MTT assay in bacteria – A review. *Acta Histochemica* **120**, 303–311 (2018).
28. Stiefel, P., Schneider, J., Amberg, C., Maniura-Weber, K. & Ren, Q. A simple and rapid method for optical visualization and quantification of bacteria on textiles. *Sci. Rep.* **6**, 1–9 (2016).
29. Holetz, F. B. *et al.* Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **97**, 1027–1031 (2002).
30. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano. Available at: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042009000100015&script=sci_abstract&tlng=es. (Accessed: 29th June 2020)
31. Mahboubi, M. & Haghi, G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *J. Ethnopharmacol.* **119**, 325–327 (2008).
32. Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Pagán, R. & Laglaoui, A. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **22**, 221–229 (2014).
33. Talbaoui, A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. *J. Med. Plants Res.* **6**, (2012).
34. Wang, W., Li, N., Luo, M., Zu, Y. & Efferth, T. Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. *Molecules* **17**, 2704–2713 (2012).
35. Tariq, S. *et al.* A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis* **134**, (2019).
36. Heidari Sureshjani, M., Tabatabaei Yazdi, F., Ali Mortazavi, S., Alizadeh Behbahani, B. & Shahidi, F. *Antimicrobial effects of Kelussia odoratissima extracts against food borne and food spoilage bacteria 'in vitro'*. *Journal of Paramedical Sciences (JPS) Spring* **5**, (2014).
37. Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D. & Corke, H. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int. J. Food Microbiol.* **117**, 112–119 (2007).
38. Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X. & Ren, L. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism.
39. Jouki, M., Yazdia, F. T., Mortazavia, S. A., Koocheki, A. & Khazaei, N. Effect of quince seed mucilage

- edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *Int. J. Food Microbiol.* **174**, 88–97 (2014).
40. Micol, V., Mateo, C. R., Shapiro, S., Aranda, F. J. & Villalaín, J. Effects of (+)-totarol, a diterpenoid antibacterial agent, on phospholipid model membranes. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **1511**, 281–290 (2001).
 41. Medina-Franco, J. L., Martínez-Mayorga, K., Peppard, T. L. & Del Rio, A. Chemoinformatic Analysis of GRAS (Generally Recognized as Safe) Flavor Chemicals and Natural Products. *PLoS One* **7**, (2012).
 42. Burt, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *International Journal of Food Microbiology* **94**, 223–253 (2004).
 43. Naczki, M. & Shahidi, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **41**, 1523–1542 (2006).
 44. Rozza, A. L., Meira de Faria, F., Souza Brito, A. R. & Pellizzon, C. H. The Gastroprotective Effect of Menthol: Involvement of Anti-Apoptotic, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities. *PLoS One* **9**, e86686 (2014).
 45. Chaudhary, S. C., Siddiqui, M. S., Athar, M. & Alam, M. S. D-Limonene modulates inflammation, oxidative stress and Ras-ERK pathway to inhibit murine skin tumorigenesis. *Hum. Exp. Toxicol.* **31**, 798–811 (2012).
 46. Pereira, I., Severino, P., Santos, A. C., Silva, A. M. & Souto, E. B. Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **171**, 566–578 (2018).
 47. Vallianou, I., Peroulis, N., Pantazis, P. & Hadzopoulou-Cladaras, M. Camphene, a plant-derived monoterpene, reduces plasma cholesterol and triglycerides in hyperlipidemic rats independently of HMG-CoA reductase activity. *PLoS One* **6**, (2011).
 48. Aydin, E., Türkez, H. & Geyikoğlu, F. Antioxidative, anticancer and genotoxic properties of α -pinene on N2a neuroblastoma cells. *Biol.* **68**, 1004–1009 (2013).
 49. Chowdhury, J. U., Bhuiyan, M. N. I. & Yusuf, M. Chemical composition of the leaf essential oils of *Murraya koenigii* (L.) Spreng and *Murraya paniculata* (L.) Jack. *Bangladesh J. Pharmacol.* **3**, (2008).
 50. Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. & Tattini, M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science* **196**, 67–76 (2012).
 51. Van Hung, P. Phenolic Compounds of Cereals and Their Antioxidant Capacity. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **56**, 25–35 (2016).
 52. Vieira, A. J., Beserra, F. P., Souza, M. C., Totti, B. M. & Rozza, A. L. Limonene: Aroma of innovation in health and disease. *Chemico-Biological Interactions* **283**, 97–106 (2018).
 53. Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. & Mohebbi, M. Use of *Plantago major* seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *Int. J. Biol. Macromol.* **94**, 515–526 (2017).
 54. Karakurt, S. *et al.* Contribution of ellagic acid on the antioxidant potential of medicinal plant *Epilobium hirsutum*. *Nutr. Cancer* **68**, 173–183 (2016).
 55. ► Conoce TODO sobre el Tuatua, *Jatropha gossypifolia*. Available at: <https://naturalezatropical.com/jatropha-gossypifolia/>. (Accessed: 1st July 2020)
 56. Group D - Medicinal Plants In Nigeria. Available at: <https://www.medicinalplantsinnigeria.com/group-d.html>. (Accessed: 1st July 2020)
 57. “*Murraya paniculata*”. *Trop. Missouri Bot. Gard.*
 58. *Albizia odoratissima* Images - Useful Tropical Plants. Available at: <http://tropical.theferns.info/image.php?id=Albizia+odoratissima>. (Accessed: 1st July 2020)
 59. Occurrence 2626262911. Available at: <https://www.gbif.org/occurrence/2626262911>. (Accessed: 1st July 2020)
 60. *Mentha pulegium* L. Available at: <http://www.floracatalana.net/mentha-pulegium-l->. (Accessed: 1st July 2020)

61. La Rioja Natural: Rosmarinus officinalis. Available at: <http://lariojanaturaleza.blogspot.com/2014/07/rosmarinus-officinalis.html>. (Accessed: 1st July 2020)
62. Salvia barrelieri | California Flora Nursery. Available at: <https://www.calfloranursery.com/plants/salvia-barrelieri>. (Accessed: 1st July 2020)
63. Grewia flava - Useful Tropical Plants. Available at: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Grewia+flava>. (Accessed: 1st July 2020)
64. SESSEI | Unlimited Perennials. Available at: <https://www.salviaspecialist.com/catalog/salvias-sessei/>. (Accessed: 1st July 2020)
65. “Schinus terebinthifolius”. *Trop. Missouri Bot. Gard.*
66. (Melipona quadrifasciata) - EcoRegistros. Available at: <http://www.ecoregistros.org/site/imagen.php?id=235073>. (Accessed: 1st July 2020)
67. Tetragonisca angustula - Wikipedia, la enciclopedia libre. Available at: https://es.wikipedia.org/wiki/Tetragonisca_angustula. (Accessed: 1st July 2020)
68. Miconia latecrenata Naudin | Plants of the World Online | Kew Science. Available at: <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:572658-1>. (Accessed: 1st July 2020)
69. Granada fruta, origen e historia, ¡descúbrela! - Vitalgrana. Available at: <https://www.vitalgrana.com/blog/granada-fruta-origen-e-historia-descubrela.html>. (Accessed: 1st July 2020)
70. Etlingera elatior (Jack) R.M.Sm. | Plants of the World Online | Kew Science. Available at: <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:942355-1>. (Accessed: 1st July 2020)

Anexos

Anexo 1

Tabla 6. Especies estudiadas en la presente revisión bibliográfica. Se especifica la familia a la que pertenecen, la localización y una imagen.

Espece	Familia	Localización	Imagen
<i>Jatropha gossypifolia</i> L. ⁵⁵	<i>Euphorbiaceae</i>	México	
<i>Dennettia tripetala</i> ⁵⁶	<i>Annonaceae</i>	África occidental	
<i>Murraya paniculata</i> ⁵⁷	<i>Rutaceae</i>	Sureste de Asia	
<i>Albizia odoratissima</i> ⁵⁸	<i>Fabaceae</i>	India	
<i>Premna microphylla turczaninovi</i> ⁵⁹	<i>Lamiaceae</i>	China	
<i>Mentha pulegium</i> ⁶⁰	<i>Lamiaceae</i>	Región mediterránea	

<i>Rosmarinus officinalis</i> ⁶¹	<i>Lamiaceae</i>	Región mediterránea	
<i>Salvia barrelieri</i> ⁶²	<i>Lamiaceae</i>	Región mediterránea	
<i>Grewia flava</i> ⁶³	<i>Malvaceae</i>	Sud África	
<i>Makhlaseh</i>	<i>Asteraceae</i>	Irán	 1
<i>Salvia sessel</i> ⁶⁴	<i>Lamiaceae</i>	México	
<i>Schinus terebinthifolius</i> ⁶⁵	<i>Anacardiaceae</i>	Originario de Sudamérica, pero muy extendido	
<i>PROPOLIS de Melipona quadrifasciata</i> ⁶⁶	<i>Apidae</i>	Sudamérica	
<i>PROPOLIS de Tetragonisca angustula</i> ⁶⁷	<i>Apidae</i>	Sudamérica	
<i>Miconia latecrenata</i> ⁶⁸	<i>Melastomataceae</i>	Sudamérica	

¹ Imagen no encontrada en internet.

<i>Cáscara de granada</i> ⁶⁹	<i>Lythraceae</i>	Europa, América del sur y del norte, Asia y África	
<i>Etlingera elatior</i> ⁷⁰	<i>Zingiberaceae</i>	Suroeste de Asia y Oceanía	

Anexo 2

Tabla 7. Actividad antimicrobiana de monoterpenos y ceftriaxona como antibiótico estándar frente *Escherichia coli* (ATCC 8739) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) del apartado 14 de resultados referente a la actividad antimicrobiana.

Clase	Compuesto	MIC (mg/L)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Hidrocarburos	Canfeno	540	610
	3-Caren	140	275
	β-Cimeno	275	300
	(R)-(+)-Limoneno	400	550
	Mirceno	65	260
	α-Pineno	550	600
Cetonas	Alcanfor	560	800
	(±)-Carvona	200	420
	(1R)-(-)-Fenchona	275	500
	Mentona	70	400
	(R)-(+)-Pulegona	60	385
Aldehídos	Citral o Geranial o Lemonal	180	290
	(1R)-(-)-Mirtenal	275	550
Alcoholes	Citronelol	135	250
	Geraniol	250	300
	Linalol	130	265
	(-)-Mentol	275	400
	A-Terpineol	55	225
	Timol	45	135
Acetatos	Acetato de cinamilo	530	675
	Acetato de citronelilo	390	450
	Acetato de eugenilo	500	650
	Acetato de geranilo	400	600

Antibiótico	Acetato de linalilo	600	850
	Acetato de α -terpinilo	550	790
	Ceftriaxona	0,727	13,10

Anexo 3

Tabla 8. Valores de la actividad antioxidante de hidrocarburos, cetonas, aldehídos, alcoholes y acetatos del apartado 14 de resultados referente a la actividad antioxidante.

Clase	Compuesto	IC50 (mg/L)
Hidrocarburos	Canfeno	868,40
	3-Caren	291,80
	β -Cimeno	916,89
	(R)-(+)-Limoneno	297,74
	Mirceno	22,136
	α -Pineno	880,74
Cetonas	Alcanfor	1101,33
	($\pm$)-Carvona	644,18
	(1R)-(-)-Fenchona	877,64
	Mentona	1217,47
	(R)-(+)-Pulegona	218,38
Aldehídos	Citral o Geranial o Lemonal	1052,36
	(1R)-(-)-Mirtenal	285,39
Alcoholes	Citronelol	289,67
	Geraniol	19,153
	Linalol	530,68
	(-)-Mentol	1047,71
	A-Terpineol	480,56
	Timol	31,426
Acetatos	Acetato de cinamilo	1067,29
	Acetato de citronelilo	685,04
	Acetato de eugenilo	606,66
	Acetato de geranilo	534,83
	Acetato de linalilo	721,779
	Acetato de α -terpinilo	647,08
Antioxidante	α -Tocoferol	5,02