

ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE *Phenax Rugosus* (LAM) PERS Y *Baccharis trinervis* (SW) WEDD.

María Elena Álvarez L.¹
Gustavo Isaza M.¹
Sandra Milena Acosta A.²
Andrés Gilberto Yepes²

RESUMEN

Se midió la actividad antimicótica *in vitro* de los extractos etanólicos de *Phenax rugosus* (esparietaria) y *Baccharis trinervis* (chilca) frente a los hongos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Candida albicans*. Los extractos etanólicos de ambas plantas presentaron actividad antimicótica frente a los dermatofitos a dosis de 150mg/mL; *Candida albicans* no fue sensible a ninguno de estos extractos en concentraciones que variaron desde 150 hasta 1000 mg/mL.

Palabras claves: Dermatofitos, *Baccharis trinervis*, *Candida albicans*, *Phenax rugosus* plantas medicinales, actividad antimicótica.

ABSTRACT

The *in vitro* antimycotic activity of the ethanolic extracts of *Phenax rugosus* and *Baccharis trinervis* was measured in regard to the fungi: *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* and *Candida albicans*. The ethanolic extracts of both plants presented antimycotic activity in response to a 150 mg/ml dose of dermatophytes.

Candida albicans was not sensitive to any of these extracts in concentrations varying between 150 up to 1000 mg/ml.

Keywords: antimycotic activity, *Baccharis trinervis*, *Candida albicans*, dermatophytes, medicinal plants, *Phenax rugosus*.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por hongos superficiales son las micosis más comunes en todo el mundo (1) y constituyen un problema de salud pública especialmente en países tropicales. El clima húmedo, la sobrepoblación y las malas condiciones higiénicas han conducido a un aumento de la prevalencia de estos patógenos (2). Estas micosis han adquirido renovada importancia además por ser una causa de consulta médica frecuente (3).

Dentro de los hongos la *Candida* es uno de los patógenos más comunes y en especial por la presentación de cuadros invasivos en pacientes inmunocomprometidos. De las infecciones nosocomiales la infección por *Candida* corresponde a la cuarta causa de diseminación por vía hematogena de los microorganismos, en especial en aquellos pacientes con factores de riesgo como el uso de catéteres centrales o con antibióticos de amplio espectro, uso de nutrición parenteral total, procedimientos quirúrgicos o uso de medicamentos inmunosupresores (4, 5).

La incidencia y la morbilidad por hongos ha presentado un incremento en los últimos 20 años, en especial por el advenimiento del VIH, la quimioterapia antineoplásica, el uso de fármacos con capacidad inmunosupresora y la resistencia a los antimicóticos (6,7).

La resistencia de los hongos a los fármacos antimicrobianos, la toxicidad de ellos y muchas

1 Profesores Departamento de Ciencias Básicas para la Salud. Facultad de Ciencias para la Salud. Universidad de Caldas. Manizales.

2 Estudiantes de pregrado, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas. Manizales

.....

veces su elevado costo, ha producido una intensa búsqueda de moléculas nuevas, obtenidas por síntesis o bien desde fuentes naturales. Una de ellas es la investigación en plantas, la cual se realiza en muchas latitudes con resultados muy promisorios pues se han encontrado, por ejemplo, efectos antimicóticos en muchos extractos vegetales utilizando diversos solventes o en los aceites esenciales (8,9,10).

Los remedios naturales hacen parte de una muy difundida tradición empírica en nuestro país, apoyada en elementos culturales y en la notable diversidad de nuestra flora, estimada en más de 50.000 especies de plantas. Sin embargo, las investigaciones farmacológicas en esta área han sido relativamente pocas. Algunos centros universitarios de nuestro país están realizando investigaciones en estas áreas, atendiendo a la enorme riqueza de la flora y al llamado de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que reconoce y estimula el gran valor de las plantas medicinales en la atención primaria de millones de personas y considera que el 80% de la población mundial utiliza estos recursos como principal fuente de atención primaria de sus problemas de salud (11, 12, 13).

Estudios etnofarmacológicos previos de nuestra Línea de Investigación encontraron que muchas plantas eran extensamente utilizadas por la población en forma empírica para tratar diversas enfermedades entre ellas las infecciosas (14,15); evaluaciones farmacológicas posteriores mostraron que muchas de esas especies vegetales tenían efecto antimicrobiano (16, 17). Las dos especies seleccionadas en la presente investigación son ampliamente utilizadas en la medicina popular en las regiones del eje cafetero y zonas de la región centro occidental colombiana.(15, 16, 18, 19).

Baccharis trinervis (Lam) Pers (n vulg. chilca), familia Asteraceae, en la medicina popular ha sido utilizada en decocción para el tratamiento de enfermedades hepáticas, contra la impotencia sexual y la esterilidad femenina, en

forma de paños para desinflamar los ojos, en lavados rectales para las hemorroides, en cataplasmas para calmar los dolores de cintura y contra el reumatismo (18, 19, 20).

Phenax rugosus (S.W) Wedd. (Esparietaria), familia Urticaceae, tiene un uso tradicional empírico en nuestra región en el tratamiento de afecciones de la piel de origen infeccioso (14, 15).

En la presente investigación se estudiaron la *Baccharis trinervis* (Lam) Pers. y *Phenax rugosus* (S.W) Wedd, para determinar si los extractos etanólicos de las hojas tienen acción antimicótica *in vitro* frente a *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Candida albicans*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales vegetales:

Baccharis trinervis y *Phenax rugosus* fueron recolectadas en su ambiente natural en la vereda El Guayabo, municipio de Cartago, Valle del Cauca a 1400 m.s.n.m. y 22°C de temperatura promedio. Fueron identificadas y clasificadas en el herbario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Caldas y debidamente comparadas con las muestras de referencia 010653 para *Baccharis trinervis* y 1016 para *Phenax rugosus*.

Extracción y preparación de los extractos:

Las hojas se secaron a 40°C y pulverizadas se maceraron en etanol al 96%. El filtrado se evaporó en rotavapor a 40° C y se guardó en congelador hasta su utilización.

Microorganismos:

Se usaron *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Candida albicans*, obtenidos del cepario del Programa de Bacteriología de la

Universidad Católica de Manizales. Tanto los hongos filamentosos como las levaduras fueron mantenidos en agar Sabouraud, a una temperatura de 4° C.

Ensayos antimicóticos:

La actividad antimicótica de los extractos se determinó por el método de dilución con suspensión de esporas; se tomaron 10 ml del extracto, se evaporaron y finalmente se reconstituyeron con 0,15 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) Y 9.85 ml de agua destilada estéril.

Cuantificación de esporas:

Para la cuantificación de esporas se preparó una solución madre a partir del cultivo de cada uno de los hongos con 50 ml de agua peptonada al 1 %. De la solución anterior se tomó 1 ml y se agregaron 9 ml de agua peptonada al 1 %, quedando preparada la dilución 10⁻¹; se repitió este procedimiento llevando 1 ml de esta dilución (10⁻¹) a otro tubo con 9 ml de agua peptonada (10⁻²) y así sucesivamente hasta obtener la dilución apropiada para estimar el número de 1000 esporas/ml.

Esta concentración se obtuvo en la dilución 10⁻². El recuento fue realizado en la cámara de Neubauer.

Tanto los dermatofitos como la *Candida* fueron sembrados a profundidad, el extracto se adicionó a una concentración final de 150 mg/ml.

Para las pruebas con *Candida albicans* el extracto también se adicionó a dosis de 250, 500 y 1000 mg/ml.

En las cajas de petri se mezclaron 1 ml del extracto, 1 ml de la suspensión de esporas con 20 ml de agar Sabouraud a 50°c. Se realizaron controles de esterilidad del extracto, viabilidad del hongo, control positivo con ketoconazol (6µg) y control negativo con dimetil sulfóxido. Las cajas se incubaron a una temperatura de 22°C.

La interpretación de los resultados para *Candida* se realizó a los tres días y para los dermatofitos a los siete días. Se compararon los halos de inhibición del control positivo con el halo de inhibición de los extractos; determinando así si el hongo era sensible o resistente. Todos los ensayos se realizaron por duplicado(21-22).

RESULTADOS

La tabla 1 muestra que los extractos etanólicos obtenidos de *Baccharis trinervis* y *Phenax rugosus* poseen actividad contra *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes* a dosis de 150 mg/mL. Ambas especies de hongos fueron sensibles al ketoconazol; el dimetilsulfóxido no tuvo efecto inhibitorio sobre los hongos objeto de estudio.

Tabla 1. Actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Baccharis trinervis* y *Phenax rugosus* contra dermatofitos.

	Extracto etanólico de <i>Baccharis trinervis</i> mg/mL	Extracto etanólico de <i>Phenax rugosus</i> mg/mL	Ketoconazol µg/mL	DMSO
Concentración	150	150	6	
T. mentagrophytes	+	+	++	-
T. rubrum	++	++	++	-

(-) : No sensible
(+) : Medianamente sensible
(++) : Sensible

Tabla 2. Actividad antimicótica de los extractos etanólicos de *Baccharis trinervis* y *Phenax rugosus* frente a *Candida albicans*.

	Extracto etanólico de <i>Phenax rugosus</i> mg/mL				Extracto etanólico de <i>Baccharis trinervis</i> mg/mL				Ketoconazol µg/mL	DMSO
	1000	500	250	150	1000	500	250	150	6	
Levadura										
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

(-):No sensible

(+):Sensible

En la tabla 2 aparecen los resultados de la actividad antimicótica de los extractos etanólicos de *Baccharis trinervis* y *Phenax rugosus* frente a *Candida albicans* donde se observa que no tuvieron efecto a concentraciones desde 150 hasta 1000 mg/mL.

DISCUSIÓN

El aumento de la morbilidad y la mortalidad por hongos, ha estimulado la búsqueda de nuevas moléculas para combatirlos y probablemente hallar novedosos mecanismos de acción antimicrobiana. Una estrategia importante en esta búsqueda es la investigación en plantas (2, 4, 23, 24, 25)

En décadas pasadas las fuentes más importantes para la obtención de sustancias con actividad antifúngica fueron especies de *Streptomyces*, algunos hongos y productos de síntesis orgánica; sin embargo, las plantas superiores han mostrado ser promisorias y múltiples trabajos en casi todo el mundo han dado resultados alentadores en este sentido no sólo con los extractos totales sino también con los aceites esenciales (8, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32).

Actividad antimicótica se ha encontrado en estudios similares con familias a las cuales pertenecen *Baccharis trinervis* (Asteracea) y *Phenax rugosus* (Urticacea) (10, 33, 34, 35).

Los resultados de la presente investigación mostraron que los extractos etanólicos de *Baccharis trinervis* (Lam) Pers y *Phenax rugosus* (S.W) Wedd, inhiben el crecimiento de los dermatofitos *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentragrophytes*. Se observó que *Baccharis trinervis* tuvo mejor efecto antimicótico y *Trichophyton rubrum* fue el más sensible a ambos extractos; esto podría tener importancia clínica por ser la especie más común en la producción de lesiones micóticas en piel, y representa entre el 80 y 90% de todas la infecciones crónicas y recurrentes (36, 37). Adicionalmente estos efectos podrían explicar el uso tradicional empírico en algunos procesos infecciosos, algunos involucrando infecciones micóticas y enfatiza la importancia de la investigación etnofarmacológica en búsqueda de nuevos compuestos bioactivos (14, 15, 25).

Los extractos etanólicos no tuvieron en la *Candida albicans* efecto inhibitorio en nuestras condiciones experimentales, pero no es descartable que a concentraciones mayores y realizando evaluación de fracciones cromatográficas muestren algún resultado positivo, a juzgar por el uso empírico que tienen.

Estudios posteriores evaluando fracciones más purificadas o extrayendo las moléculas bioactivas con propiedades antimicóticas de ambas especies, podrían confirmar su real potencia y eficacia. De todas maneras son especies promisorias, abundantes, de amplia distribución y

consideradas como "malezas", ya que no representan utilidad de tipo económico o productivas, pero sus propiedades medicinales podrán convertirlas en una buena alternativa de producción sostenible y sustitución de cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. MARTÍNEZ A, TORRES J.M. Micosis que afectan piel y mucosas. Ediciones Doyma, Barcelona 1987: 34-71.
2. RUBIO MC, REZUSTA A, GIL J, RUESCA RB. Perspectiva micológica de los dermatofitos en el ser humano. Rev. Iberoam. Micol. 1999. 16:16-22.
3. BUITRAGO, G.E. Dermatomicosis en población de Manizales. Biomédica 1994. 14 :77-84.
4. ASCIOGLU S, REX JH, DE PAUW B, BENNETT JE. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants. Interna consensus 2002. 37:7-14.
5. OSTROSKY-ZEICHNERL, REX JH, BENNETT J. Deeply invasive candidiasis. Infect Dis Clin N Am 2002. 16: 821-5.
6. HORVATH R, COLLIGNON P. Controlling intravascular catheter infections. Austr Pres 2003. 26:41-43.
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION. The World Health report. Life in the 21st century: a vision for all, Measuring health. World Health Organization, Geneva, Switzerland 1998. P:39-60.
8. LÓPEZ H, TOWERS G.H.N. Antiviral and antimicrobial activities of colombian medicinal plants. J. Ethnopharmacol 2001. 77:189-196.
9. CRACRAFT J, GRIFO F.T. The living planet in crisis. Biodiversity science and policy 1999: 159.
10. SANABRIA A, MANTILLA J.R. Actividad antifúngica de plantas superiores colombianas. Revista Colombiana de Ciencias químico farmacéuticas 1986. 15:17-22.
11. ISAZA C, ISAZA G, FUENTES J Y MARULANDA T. Plantas Medicinales En: Isaza CA, Isaza G, Fuentes J, Marulanda T (ed). Fundamentos de Farmacología en Terapéutica. 4^a ed. Postergraph, Pereira 2002. 545-554.

12. ZANG X. Traditional Medicine WHO. *Hardard Medicus* 1996. 39:103.
13. FARNSWORTH NK, AKERELE O, BENDEL AS, SUEJANTO DD, GUO Z. Las plantas medicinales en la terapéutica. *Bol Of Sanit Panam*, 1989. 107:4314-29.
14. BUENO JG, ISAZA G, GUTIÉRREZ F, CARMONA WD, PÉREZ JE. Estudio etnofarmacológico de plantas usadas empíricamente por posibles efectos inmunoestimulantes. *Rev. Med. Ris.*, 2001. 7: 7-11.
15. ISAZA G, BUENO J, JARAMILLO R, GUTIÉRREZ F, GUZMÁN AM. Estudio etnofarmacológico de plantas usadas empíricamente en 4 ciudades del centro - occidente colombiano. *Medomai*, 2001. 2:8-9.
16. ARANGO M, DUQUE N, ISAZA G. Evaluación de la actividad antibacteriana de 24 arvenses. *Medicina de Caldas*, 2001. 15:71-74.
17. ARANGO M, BUENO JG, ISAZA G, PÉREZ JE, ALVARES LF, OSORIO EJ, RINCÓN AJ, DUQUE AC. Efectos antibacterianos y antimicóticos de *Alternanthera williamsii*, *Solanum dolichosepalum*, *Baccharis trinervis*, *Tabebuia chrysantha* y *Phenax rugosus*. *Biosalud*, 2004; 3:49-54.
18. CORREA JE, BERNAL HY. *Compositae (Asteraceae) Baccharis latifolia* En: Correa JE, Bernal HY (eds). *Especies vegetales promisorias*. Tomo V. Editorial Guadalupe Ltda, Santafé de Bogotá, 1990. P:200-207, 228-236.
19. GÓMEZ A, RIVERA H. *Baccharis trinervis* (Lam) Pers. En: Ospina H. F (ed). *Descripción de malezas en plantaciones de café*. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (Cenicafé). Carvajal S.A. Chinchina, 1987. P:162 -163.
20. GARCÍA BARRIGA H. *Especies Medicinales* En: García Barriga H (ed). *Flora medicinal de Colombia*. Tomo 2. Talleres Editoriales de la Imprenta Nacional, Santafé de Bogotá, 1975. P:310 - 311.
21. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología. *Actividad antimicótico* En: CYTED (ed). *Manual de técnicas de investigación*. CYTED, Santafé de Bogotá, 1995. P:71-74.
22. VÉLEZ P.E, POSADA F, MARÍN P, GONZALEZ M.T, OSORIO E Y BUSTILLO A. *Pruebas Microbiológicas* En: CENICAFE (ed). *Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos*. Boletín Técnico No. 17. Federación Nacional de Cafeteros. Chinchina, 1997. P: 7-14.

23. WIART C, MOGANA S, CALIFA S, MAHAN. Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia. *Fitoterapia*, 2004. 75:68-73.
24. DE SMET PA. The role of plant derived drugs and herbal medicines in health care. *Drug*, 1997. 54(6):801-840.
25. SANABRIA A. Biodiversidad, tradiciones e investigación al servicio de salud En: OPS, Ministerios del Medio Ambiente y de la Protección Social; Embajada Real de los Países Bajos. *Memorias del Seminario Nacional Plantas Medicinales y sus Derivados*. Maranta, Bogotá 2004. P: 22-31.
26. NATARAJAV V, VENUGOPAL PV, MENON T. Effect of azadirachta indica (NEEM) on the growth pattern of dermatophytes. *Indian J. Med. Microbiol.*, 2003. 21:98-101.
27. SOUZA LK, OLIVEIRA CM, FERRI P, SANTOS S, OLIVEIRA JUNIOR J, MIRANDA AT, LIÃO LM, SILVA M.R. Antifungal properties of brazilian cerrado plants. *Brazilian J. Microbiol.*, 2002. 33:247-249.
28. SOUZA L, OLIVEIRA C, FERRI P, OLIVEIRA JUNIOR J, SOUZA JUNIOR A, FERNÁNDEZ F.O, SILVA M.R. Antimicrobial activity of *Hyptis ovalifolia* towards dermatophytes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2003. 98:963-965.
29. RIVERO M, ÁLVAREZ M; LÓPEZ T, GONZÁLES J. Actividad antifúngica in vitro del *Pinus caribae* (pino macho). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 1997. 2:25-29.
30. TIWARI, T.N, PANDEY, V,B, DUBEY, N,K. Plumieride from *Allamanda cathartica* as an antidermatophytic agent. *Phytotherapy Research*, 2002. 16:393-394.
31. MACCHIONI F; PERRUCCI S, FLAMINI G. Antimycotic activity against *Saprolegnia ferax* of extracts of *Artemisia verlotorum* and *Santolina etrusca*. *Phytotherapy Research*, 1999. 13:242-244.
32. NAVARRO V.M, GONZALES A, FUENTES M; AVILES M, RIOS M.Y, ZEPEDA G, ROJAS M.G. Antifungal activities of nine traditional mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*, 2003. 87:85-88.
33. SHAHIDI-B G.H. Inhibition of Clotrimazole-resistant *Candida albicans* by plants used in Iranian folkloric medicine. *Fitoterapia* 2004; 75: 74-76.

34. WANNISSORN B, JARIKASEM S, SIRIWANGCHAI T, THUBTHIMTHED S. Antibacterial properties of essential oils from Thailandia medicinal plants. *Fitoterapia*, 2005. 76:233–236.
35. SASIKUMAR JM, PICHAJ A, DOSS A. Antibacterial activity of *Eupatorium glandulosum* leaves. *Fitoterapia*, 2005. 76:240–243.
36. TORRES J, MADRENYS N, URREA A. Terbinafina por vía oral en el tratamiento de la tinea unguium de los pies. Eficacia entre 12 y 14 semanas de tratamiento. *Rev. Iberoam. Micol.*, 1998. 15:160–162.
37. ARENAS R. Dermatofitosis en México. *Rev. Iberoam. Micol.*, 2002. 19:63 –67.