

# **Evaluación de la actividad antifúngica de extractos de mamoncillo (*Melicoccus bijugatus*) y achiote (*Bixa orellana*)**

Betancur Jaramillo Daniela, Valdés Duque Beatriz, Correa Elizabeth,  
Osorio-Echeverri Víctor Manuel

Grupo de investigación Biociencias. Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia

**Resumen.** La implementación de plantas medicinales debido a los conocimientos ancestrales, en particular de comunidades rurales, ha venido en crecimiento. Diversas investigaciones han validado la presencia de compuestos activos, tanto en plantas nativas como introducidas al país, que poseen beneficios para la salud como antioxidantes, antibióticos y antifúngicos. En la actualidad una de las enfermedades más comunes entre las personas son las causadas por los hongos dermatofitos como los pertenecientes a los géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*, los cuales son responsables de lesiones en cuero cabelludo, uñas, plantas de los pies, entre otras. Estos hongos son de difícil erradicación por lo que es importante estudiar la implementación de metodologías de extracción que implican el uso de diferentes solventes y métodos para la obtención de compuestos naturales. En este estudio se utilizaron mamoncillo y achiote como plantas de estudio. Se realizaron extracciones usando como solvente etanol o metanol por extracción mediada por ultrasonido o por maceración y se evaluó la actividad antifúngica de los extractos. La pulpa de mamoncillo tuvo mayores rendimientos por maceración en metanol (51.08%), en contraste con la cáscara y las hojas que por este método alcanzaron rendimientos de 16.62% y 10.26% respectivamente. En achiote se obtuvieron rendimientos hasta de 25.54% para fruto. Todos los tejidos estudiados presentaron actividad contra los tres dermatofitos evaluados evidenciándose mayor inhibición para los extractos obtenidos con etanol.

**Palabras clave:** extractos vegetales, ultrasonido, maceración, dermatofitos

## **Introducción.**

En Colombia, las micosis superficiales se encuentran entre las infecciones fúngicas más frecuentes y afectan entre un 20 y un 25 % de la población y su incidencia está constantemente en incremento [1-2]. Entre los hongos con capacidad de producir este tipo de infección se encuentran los dermatofitos que comprenden tres géneros: *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton* los cuales a su vez se clasifican según la fuente de infección: geofílicos, zoofílicos y antropofílicos; estos hongos filamentosos tienen la capacidad de digerir y utilizar la queratina como sustrato [3-4]. A muchas de las plantas medicinales aprobadas en Colombia se les ha encontrado capacidad de inhibir el crecimiento de hongos debido a la producción de metabolitos secundarios como fitoantocianinas y fitoalexinas y por lo tanto son potenciales para el desarrollo de tratamientos tópicos o sistémicos para el control de las dermatofitosis [5]. Entre algunos ejemplos se comprobó que los aceites esenciales de los frutos del hinojo (*Foeniculum vulgare*), los aceites y extractos etanólicos de menta (*Mentha piperita*) y los extractos etanólicos obtenidos de las hojas de sábila (*Aloe vera*) inhiben el crecimiento de hongos de los géneros *Trichophyton*, *Epidermophyton* y *Microsporum* [7–11]. También se ha evidenciado la actividad de plantas de alto potencial comercial como el achiote (*Bixa orellana*) para las que a partir de las hojas y del tallo se han obtenido extractos a los cuales ya se demostró actividad inhibitoria de *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* y *Microsporum gypseum*, entre muchos otros hongos filamentosos [6-8]. Por otra parte, se han obtenido extractos a partir de la pulpa de la fruta y del embrión del mamoncillo (*Melicoccus bijugatus*) con capacidad de inhibir el crecimiento de *Candida albicans* pero aún no se reporta una actividad contra dermatofitos [8]. Esto demuestra el potencial de las plantas presentes en Colombia para la producción de nuevos medicamentos que puedan combatir las infecciones causadas por este tipo de hongos.

## **Materiales y métodos.**

Para la realización del proyecto se establecieron puntos y coordenadas de las zonas de tomas de muestra por medio del visor web del municipio de Medellín MApGis5. Los tejidos vegetales seleccionados fueron hojas, cáscara y pulpa de mamoncillo y hojas y fruto de achiote. Estos fueron trasladados al laboratorio de biotecnología de la I.U. Colegio Mayor de Antioquia en bolsas negras. Posteriormente fueron desinfectadas con jabón líquido comercial y agua y se secaron en una estufa a 40°C por 24h, luego fueron molidos y almacenados en bolsas de aluminio.

Para estandarizar el proceso de extracción se tuvieron en cuenta parámetros como el solvente (metanol y etanol) y la metodología de extracción (ultrasonido) y maceración. En cada montaje se usaron 200ml de solvente y 10g de material vegetal previamente molido. En la extracción por maceración el montaje fue llevado a cabo en frascos de 500ml envueltos con aluminio para evitar la degradación de compuestos naturales fotosensibles y se agitaron durante 48h a 25°C y 150 rpm. En el caso de la extracción asistida por ultrasonido, el montaje se hizo en beakers de 200ml, este se puso en un baño maría a 25°C con la sonda del ultrasonido, el sonicador se programó con 40% de amplitud por 20min con pulsaciones de 2x2. Los extractos obtenidos de ambas metodologías fueron centrifugados para retirar el material vegetal presente y fueron concentrados en frascos ámbar de 60ml por rotavaporación a 40°C y 150 rpm. Posteriormente, se congelaron a -22°C para su liofilización a 0,85mbar por 24h. Finalmente se pesó cada frasco para calcular los rendimientos de extracción y se almacenaron a -22°C hasta el momento de realizar la evaluación de la actividad antifúngica.

Para la evaluación de la actividad antifúngica, se activaron los hongos dermatofitos *E. floccosum*, *T. rubrum* y *M. gypseum*, en placas en agar lactrimel. El inóculo se preparó en agua destilada + tween 80 al 0.1%. Se realizó el conteo de conidias en cámara de Neubauer con el fin de garantizar un inóculo entre 1 a  $5 \times 10^6$  UFC/ml para los tres hongos. Los extractos liofilizados fueron resuspendidos en DMSO hasta una

concentración de 500000 µg/ml de extracto. Luego se prepararon placas de Petri con agar Sabraud, las cuales se inocularon con cada hongo dermatofito por medio del trapeado con isopo; se ubicaron 5 disco de papel filtro por caja y en cada uno se añadieron 8µl de los extractos a evaluar. Las placas fueron incubadas durante 12 días. A partir del quinto día de incubación y con una frecuencia de 2 días, se realizaron las lecturas de la actividad antifúngica, midiendo el halo inhibición en mm.

### **Resultados y discusión.**

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tratamientos e interacción entre los tres factores evaluados (valor  $p < 0,05$ ). El factor planta tuvo una mayor influencia en el rendimiento, seguida por la interacción planta:solvente y planta:método. Los rendimientos de los extractos metanólicos de la pulpa de mamoncillo fueron mayores a sus extractos etanólicos, mientras que para las hojas de esta planta los rendimientos más altos se obtuvieron utilizando etanol como solvente. En cuanto al método de extracción, la maceración fue más efectiva en la pulpa de mamoncillo mientras que el método de ultrasonido fue más efectivo para la cáscara de este. Para la pulpa de mamoncillo se obtuvieron mayores rendimientos en maceración (51.08%) en metanol, en contraste con la cáscara y las hojas 16.62% y 10.26% respectivamente. Los mayores rendimientos se obtuvieron con pulpa de mamoncillo mientras que los menores rendimientos correspondieron a los obtenidos por las hojas y las cáscaras de mamoncillo. El rendimiento más alto fue de 51.08% obtenido de la pulpa de mamoncillo, utilizando metanol como solvente y maceración como método de extracción, en contraste, el menor rendimiento se obtuvo en hojas de mamoncillo (11.96 %) utilizando el mismo método de extracción y solvente. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el rendimiento obtenido por la pulpa de mamoncillo para los métodos de extracción ni los solventes utilizados.

Los extractos etanólicos de las hojas, pulpa y cáscara de mamoncillo mostraron actividad antifúngica contra los tres hongos evaluados, mientras que los extractos

metanólicos no mostraron esta actividad. Bystrom y colaboradores (2009) observaron actividad inhibitoria de extractos de diferentes tejidos del fruto de mamoncillo contra *C. albicans*, aunque estos autores no reportan la diferencia en la actividad biológica según el solvente utilizado, concuerdan con que la actividad biológica esta relacionada con los componentes extraídos por el tipo de solvente y que estos pueden ser específicos para cada microorganismo, además, resaltan que la presencia de ciertos azúcares y compuestos fenólicos pueden ser la causa de la actividad antimicrobiana presente en el fruto del mamoncillo [8].

Aunque los rendimientos de las hojas y el fruto de achiote fue menor al observado en mamoncillo, la actividad antifúngica fue significativa. Todos los extractos obtenidos de las hojas de achiote mostraron actividad antifúngica contra los tres hongos evaluados, en contraste, sólo los extractos etanólicos del fruto mostraron esta actividad. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Selvi y colaboradores en 2011, quienes reportaron efectos antifúngicos mucho mayores de los extractos de las hojas de achiote que en las semillas para hongos dermatofitos. Los autores consideraron que la ausencia de alcaloides en las semillas era la causa de la falta de actividad antifúngica de los extractos metanólicos de estas [12]. Castello y colaboradores en 2002 reportaron actividad antimicrobiana diferencial según el tejido u organo de la planta, siendo las hojas las que presentaron una máxima actividad contra *Bacillus pumilus*.

## **Conclusiones.**

La extracción metanólica de la pulpa de mamoncillo presenta altos rendimientos sin embargo una baja actividad antifúngica. Los extractos etanólicos de mamoncillo y achiote presentan actividad biológica contra hongos dermatofitos *M. gypseum*, *T. rubrum* y *E. floccosum*. El solvente y la metodología de extracción afectan significativamente los rendimientos y la actividad biológica de los extractos obtenidos, que a su vez esta relacionada con los compuestos presentes en cada

tejido y órgano de la planta. Esto indica que cada tejido puede tener metabolitos específicos que poseen actividad biológica contra un patógeno determinado.

## Referencias.

- [1] Mejía-Arango MA, Santa-Vélez C, Cadavid-Sierra M, Vélez LM, Colmenares LM, Restrepo-Jaramillo BN, Cardona-Castro N. Estudio etiológico y epidemiológico de las micosis cutáneas en un laboratorio de referencia – Antioquia – Colombia, Rev. CES Med. 2013; 27:7–19.
- [2] Sánchez-Saldaña L, Matos-Sánchez R, Kumakawa Sena H. Infecciones micóticas superficiales. Dermat. Peruana. 2009; 19:226–266.
- [3] Giraldo-Hoyos AP, Cardona-Castro N. Micosis cutáneas prevalentes en la infancia. Rev. La Asoc. Colomb. Dermatología. 2014; 22:211–221.
- [4] Bonifaz A. Dermatofitosis. En: Micología Médica Básica, 4 ed., Mc Graw Hill, México, 2012:58–108.
- [5] Fernández Torres B. Sensibilidad antifúngica de los dermatofitos. Universitat Rovira i Virgili, 2005.
- [6] Fonnegra R, Jiménez SL. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2 ed., Universidad de Antioquia, Medellín, 2007.
- [7] Navarro García VM, Gonzalez A, Fuentes M, Aviles M, Rios MY, Zepeda G, Rojas MG. Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants. J. Ethnopharmacol. 2003; 87:85–88.
- [8] Bystrom LM, Lewis BA, Brown DL, Rodriguez E, Obendorf RL. Phenolics, sugars, antimicrobial and free-radical-scavenging activities of *Melicoccus bijugatus* Jacq. fruits from the Dominican Republic and Florida. Plant Foods Hum Nutr. 2009;64(2):160–6.
- [9] Zeng H, Chen X, Liang J. In vitro antifungal activity and mechanism of essential oil from fennel (*Foeniculum vulgare* L.) on dermatophyte species, J. Med. Microbiol. 2015; 64:93–103. doi:10.1099/jmm.0.077768-0.
- [10] Soković MD, Vukojević J, Marin PD, Brkić DD, Vajs V, Van Griensven LJLD. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *mentha* species and

their antifungal activities, *Molecules*. 2009; 14:238–249.  
doi:10.3390/molecules14010238.

- [11] Adejumo TO, Bamidele BS. Control of dermatophyte-causing agents (*Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum*) using six medicinal plants, *J. Med. Plant Res.* 2009; 3:906–913.
- [12] Selvi T, Dinesh M, Satyan R, Chandrasekaran B, Rose C. Leaf and seed extracts of *Bixa orellana* L . exert anti-microbial activity against bacterial pathogens *J. Appl. Pharm. Sci.* 2011; 1:116–120.