

# ACCIÓN INHIBITORIA DE CRECIMIENTO DE LA ASOCIACIÓN DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE *Erythroxylum novogranatense* (MORRYS) VAR. *truxillense* (RUSBY) Y *Plantago major* L. FRENTE A BACTERIAS Y HONGOS

Bazalar V. Dolores\*; Choquesillo P. Fritz\*\*; Milla F. Hugo\*\*;  
Herrera C. Oswaldo\*; Félix V. Miguel\*\*

## RESUMEN

Diversos estudios sobre la acción inhibitoria de crecimiento del extracto acuoso exento de alcaloides de *Erythroxylum novogranatense* (Morrays) var. *truxillense* (Rusby), frente a diversas cepas de bacterias, hongos, bacterias cariogénicas y cepas ATCC, hemos reportado anteriormente.

Estudios anteriores sobre *Plantago major* L. "Llantén", reportan componentes químicos como: glicósidos, aucubinas, flavonoides, terpenos, taninos, resinas, ácidos orgánicos, minerales, vitaminas y otros elementos.

Se realizó las determinaciones fitoquímicas en muestras de ambas especies, los extractos acuosos fueron esterilizados separadamente mediante filtros de Millipore, para realizar las determinaciones de acción inhibitoria de crecimiento frente a bacterias y hongos.

La proporción de la asociación de los dos extractos acuosos empleados fue de 50/50, como óptimo para nuestro estudio.

Se emplearon 63 cepas de bacterias multiresistentes a antimicrobianos y cepas ATCC, hongos anemófilos y dermatofitos.

Los métodos empleados fueron: turbidimétrico para bacterias y de difusión en placa para hongos en medios específicos.

Por los resultados obtenidos se demuestra que, la asociación de ambos extractos presentaron sinergismo, comparada con el estudio realizado por separado de cada uno de los extractos.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente a nivel mundial y en los países en vías de desarrollo, se están realizando estudios sobre diferentes especies de plantas consideradas como medicinales, ya que son empleadas en la medicina tradicional, por los diferentes efectos terapéuticos que se les atribuyen.

La composición química de las hojas de las especies estudiadas: *Erythroxylum novogranatense* (MORRYS) var. *truxillense* (RUSBY) "Hoja de coca de Trujillo", no es uniforme, dependiendo de los factores geográficos, ecológicos, forma de cultivo y edad de las plantaciones. Se han reportado investigaciones sobre la composición química, demostrando la presencia de: elementos inorgánicos, vitaminas carbohidratos, flavonoides y alcaloides atribuyéndoseles propiedades antiinflamatorias, cicatrizantes, astringentes, vasodilatadoras, etc. Estudios reportados sobre *Plantago major* L. "Llantén", han demostrado el uso de hojas, semillas, raíz, o de la planta total. Como componentes químicos: el glucósido, aucubina, proteínas, carbohidratos, minerales, vitaminas, flavonoides, terpenos, taninos, ácido cítrico, ácido oxálico, grasas, re-

sinas, ceras y otros elementos. En nuestro país, se encuentra difundido su uso como antiinflamatoria y cicatrizante sobre la piel y mucosas y también en traumatismos.

Investigaciones que hemos reportado a partir de 1993 a la fecha, empleando el extracto acuoso de principios activos totales exento de alcaloides de la especie de la hoja de coca en las concentraciones de 800 ug/ml y 1000 ug/ml. Presentaron acción inhibitoria de crecimiento frente a cepas multiresistentes a diversos antibacterianos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus viridans* var. *mitis*, *mutans* y *salivarius*. Estos últimos aislados de procesos cariogénicos. Disminución de crecimiento a *Mycobacterium tuberculosis*; obtención de colonias pequeñas y pérdida de pigmentación de hongos considerados como anemófilos.

En la presente investigación, se trata de determinar la acción inhibitoria de crecimiento de la asociación de extractos acuosos de ambas especies 50: 50 de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) var. *truxillense* (Rusby) y de *Plantago major* L frente a bacterias Gram positivas, Gram negativas, hongos anemófilos y hongos dermatofitos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Las hojas de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) var. *truxillense* (Rusby) fueron seleccionadas según criterios establecidos, trituradas y sometidas a maceración con metanol GR durante 7 días, posteriormente la muestra se concentró a presión reducida y tratada por métodos específicos para eliminar la clorofila y los alcaloides. Posteriormente se realizó el screening fitoquímico y las pruebas de identificación correspondientes.

Las hojas de *Plantago major* L. fueron seleccionadas, lavadas y secadas en estufa de aire circulante a temperatura de 40 a 60°C, durante 3 a 4 días. La muestra fue reducida a fragmentos pequeños, 20 g de muestra fue adicionada a 200 ml de agua destilada y sometida a baño maría entre 40 a 60°C por 4 horas, se filtró y concentró a sequedad.

Ambos extractos fueron esterilizados al vacío a través de embudo de filtración de polisulfona para filtro de 47 mm. Membrana Sterilized Gelman Sciences 0,45 um, Bomba de vacío 23 - 25 Pg. Hg y filtro protector Vacushield. Las muestras obtenidas fueron colocadas en matraces estériles para realizar las diluciones correspondientes.

Se emplearon en la presente investigación 63 cepas que correspondieron a bacterias Gram positivas y Gram negativas con multiresistencia a antimicrobianos, hongos anemófilos y hongos dermatofitos aisladas de diferentes especímenes patológicos, así como cepas ATCC. Así como medios de cultivo específicos para el aislamiento y diferenciación bioquímica entre otros: medio fluido de tioglicolato, Mitis Salivarius agar, Brain Heart Infusion, Brain Heart infusion agar, para determinar la acción inhibitoria de la asociación de los extractos.

Se emplearon los métodos: turbidimétrico y de difusión en placa, incubando los medios sembrados a 37°C por 24 y 48 horas para bacterias y de 25°C por 5 a 7 días para hongos.

## RESULTADOS

De las 17 cepas de bacterias Gram negativas estudiadas: 6 presentaron inhibición de crecimiento, correspondiendo 3 cepas a *E. coli*, 1 cepa a *Salmonella typhi* y 2 cepas a *Serratia marcescens*. De las 10 cepas de *Staphylococcus* se reportó el siguiente resultado: 3 cepas de *S. aureus* y 5 cepas de *Staphylococcus epidermidis* presentaron inhibición de crecimiento. De las 20 cepas de *Streptococcus viridans* aisladas de procesos cariogénicos, 4 cepas de *S. mutans*, 2 cepa de *S. sanguis*, 4 cepas de *S. mitior*, 2 cepas de *S. milleri* y 2 cepas de *S. salivarius* presentaron inhibición de crecimiento; en el caso de las 2 cepas de *Veillonella*, no se observó inhibición. las 2 cepas de *Actinomyces* presentaron

**TABLA 1. Resultado de la acción inhibitoria de los extractos acuosos frente a bacterias Gram negativas-Concentración 50 : 50 método turbidimétrico**

MICROORGANISMOS	CONCENTRACIÓN 50 : 50
<i>Escherichia coli</i> Lb	-
<i>Escherichia coli</i> LB1	-
<i>Escherichia coli</i> LB2	-
<i>Escherichia coli</i> LB3	+
<i>Escherichia coli</i> LB4	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LB5	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LB6	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LB7	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> LB8	+
<i>Salmonella typhi</i> LB9	-
<i>Salmonella typhi</i> LB10	+
<i>Serratia marcescens</i> LB11	-
<i>Serratia marcescens</i> LB12	-
<i>Shigella flexneri</i> LB13	+
<i>Shigella flexneri</i> LB14	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> LB15	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> LB16	+

LEYENDA: + Crecimiento; - Inhibición de crecimiento

inhibición de crecimiento. De las 7 cepas de hongos enemófilos presentaron inhibición de crecimiento: cepa de *Penicillium spp.*, *Aspergillus clavatus*, *Alternaria*, *Hormodendrum* y *Mucor*. Las cepas de hongos dermatofitos: *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypsum*, *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* y *T. mentagrophytum*, presentaron disminución del crecimiento en cuanto al tamaño de las colonias

**TABLA 2. Resultado de la acción inhibitoria de los extractos acuosos frente a bacterias Gram positivas-Concentración 50 : 50, método turbidimétrico**

MICROORGANISMOS	CONCENTRACIÓN 50 : 50
<i>Staphylococcus aureus</i> A	-
<i>Staphylococcus aureus</i> A1	-
<i>Staphylococcus aureus</i> A2	-
<i>Staphylococcus aureus</i> A3	+
<i>Staphylococcus aureus</i> A4	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i> A5	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> A6	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> A7	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> A8	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> A9	-

LEYENDA: + Crecimiento;

- Inhibición de crecimiento

**TABLA 3. Resultado de la acción inhibitoria de los extractos acuosos frente a diversas cepas- Concentración 50 : 50 método turbidimétrico**

MICROORGANISMOS	CONCENTRACIÓN 50 : 50
<i>Streptococcus mutans</i> V1	-
<i>Streptococcus mutans</i> V2	-
<i>Streptococcus mutans</i> V3	-
<i>Streptococcus mutans</i> V4	-
<i>Streptococcus sanguis</i> V5	+
<i>Streptococcus sanguis</i> V6	+
<i>Streptococcus sanguis</i> V7	-
<i>Streptococcus sanguis</i> V8	+
<i>Streptococcus mitior</i> V9	-
<i>Streptococcus mitior</i> V10	-
<i>Streptococcus mitior</i> V11	-
<i>Streptococcus mitior</i> V12	-
<i>Streptococcus milleri</i> V13	+
<i>Streptococcus milleri</i> V14	+
<i>Streptococcus milleri</i> V15	-
<i>Streptococcus milleri</i> V16	-
<i>Streptococcus salivarius</i> V17	+
<i>Streptococcus salivarius</i> V18	+
<i>Streptococcus salivarius</i> V19	-
<i>Streptococcus salivarius</i> V20	-
<b>COCOS GRAM NEGATIVOS</b>	
<i>Veillonellas</i> R1	+
<i>Veillonellas</i> R2	+
<b>BACILOS GRAM POSITIVOS</b>	
<i>Actomyces</i> spp S1	-
<i>Actinomyces</i> spp S2	-

LEYENDA: + Crecimiento

- Inhibición de crecimiento

**TABLA 4. Resultado de la acción inhibitoria de los extractos acuosos frente a hongos anemófilos y hongos dermatofitos. Concentración 50 : 50, método de dilución en placa**

MICROORGANISMOS	CONCENTRACIÓN 50 : 50
<b>HONGOS ANEMOFILOS</b>	
<i>Penicillium notatum</i>	+
<i>Penicillium spp</i>	-
<i>Aspergillus niger</i>	+
<i>Aspergillus clavatus</i>	-
<i>Alternaria</i>	-
<i>Hormodendrum</i>	-
<i>Mucor</i>	-
<b>HONGOS DERMATOFITOS</b>	
<i>Epidermophyton floccosum</i>	+/-
<i>Microsporum gysium</i>	+/-
<i>Microsporum canis</i>	//-
<i>Trichophytum rubrum</i>	+/-
<i>Trichophytum mentagrophytum</i>	+/-

**LEYENDA:** + Crecimiento; - Inhibición de crecimiento  
+/- crecimiento de colonias pequeñas

así como modificaciones en sus características culturales, los resultados se reportan en los cuadros respectivos.

Las cepas ATCC, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, presentaron inhibición de crecimiento.

## DISCUSIÓN

La acción inhibitoria de crecimiento observada en cada una de las cepas estudiadas nos demuestran que ambos extractos acuosos empleados en forma asociada, presentan una acción de sinergismo, comparándola con el estudio realizado por separado en ambos casos.

Debemos de tener en cuenta que es importante la acción antiagregante que ejercen sobre las bacterias cariogénicas ya que éstas presentan entre otros el factor coagregante para fijarse sobre la placa dental.

Así mismo es importante, resaltar la obtención de colonias pequeñas de hongos dermatofitos en cuanto a su tamaño, comparándolo con el desarrollo de colonias sin tratamiento, así como la pérdida de la pigmentación propia de cada especie.

## BIBLIOGRAFIA

BUNIATO O. A & LAJUBUTU, Ba. antimicrobial potentials of some plants species of the Bignoniaceae family. Afr. Med. Sci. 1994 Sep-23 (3): 263-73.

- BAZALAR V. D.; ALCÁNTARA L. D.; LEÓN S. E. Acción inhibitoria de extractos acuoso y metanólico exento de alcalides de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) var. *truxillense* RUSBY, frente a uropatógenos Gram negativos. Act. II Encuentro Iberoamericano sobre las Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias. La Habana, Cuba. 1996.
- CARREÑO, M. Efecto cicatrizante de *Plantago major* (Llantén). Trabajo de Aptitud Profesional para optar el Título de químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú. 1993.
- GILVONIO, G. C. Aislamiento, elucidación estructural y comprobación de las propiedades antibacterianas de los glicósidos de *Plantago major* L. Trabajo de aptitud Profesional para optar el Título de Químico farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 1989.
- GRABOR, M. Plant flavonoids in biology and medicine II. Biochemical celular and Medicinal Properties. 1988. Pp I - 15 alan R. Liss. Ins.
- QUALITY CONTROL METODS FOR MEDICINAL PLANT MATERIALS. 1992. Wo-Pharm 559.
- SCHEIE A. Mechanisms of dental plaque formation. Adv. Dent. 1994 Jul. 8 (2); 246-53.

*Max Planck, cuando le fue concedido el Premio Nobel manifestó lo siguiente: "Cuando recuerdo el largo y laberíntico sendero que condujo al descubrimiento de la teoría que condujo al descubrimiento de la teoría del quantum se me presenta la figura de Goethe diciendo que los hombres siempre cometerán equivocaciones en su búsqueda ansiosa por algo nuevo".*