

## DESARROLLO DE UN FITOFÁRMACO DE USO TÓPICO

Karen Alcalá Camarillo<sup>1</sup>, Genaro López Soto<sup>2</sup>, Elena Beatriz Donis Corado<sup>3</sup>, Nathaly Esmeralda Miranda Pérez<sup>2</sup>, Paulina Jimena Soto Silva<sup>2</sup>, Alejandro Palizada Sánchez<sup>2</sup>, Chystyan Iván Bustos Gómez<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Licenciatura en Médico Cirujano, División de Ciencias de la Salud, Campus León, Universidad de Guanajuato, México

<sup>2</sup>Escuela de Nivel Medio Superior de Irapuato, Universidad de Guanajuato, México

<sup>3</sup>Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química, Guatemala

<sup>4</sup>Maestría en Ciencias Farmacéuticas, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, México  
k.alcalacamarillo@ugto.mx<sup>1</sup>, g.lopezsoto@ugto.mx<sup>2</sup>, elenabdonis@gmail.com<sup>3</sup>, ci.bustos@ugto.mx<sup>4</sup>

### Resumen

Las ceibas son un género de árboles que están distribuidos en México, Centroamérica y Sudamérica, pero también en áreas tropicales alrededor del mundo. Así también, *Argemone mexicana* (L), conocida como chicalote, la cual se ha utilizado ancestralmente para tratar problemas gastrointestinales, así como agente diurético, laxante y expectorante. Además, el extracto etanólico de las ramas y el aceite de las semillas presenta actividad antibiótica. Está actividad antibiótica presente en ambas plantas fue aprovechada para el desarrollo de un fitofármaco de uso tópico.

**Palabras clave:** Ceiba; antibiótico; chicalote; fitofármaco.

### Introducción

La ciencia de la microbiología médica data de los estudios pioneros de Pasteur y Koch, quienes aislaron agentes específicos y comprobaron a través del método experimental que podían causar enfermedades. Los métodos desarrollados por ellos condujeron a la primera época dorada de la microbiología (1875–1910), cuando se definieron muchas enfermedades bacterianas y los organismos causantes. La utilización de fitofármacos para el tratamiento de las diversas enfermedades que han azotado a la humanidad se remonta al comienzo de la civilización. La fitofarmacología es una rama de la farmacología orientada al estudio de los extractos estandarizados a partir de plantas, que presentan actividad farmacológica mediante las características de sus principios activos los cuales se puede preparar a partir de las partes vegetales cortadas y pulverizadas a través de diferentes técnicas como la preparación de la tinturas, maceraciones y destilados, todos estos extractos obtenidos con diferentes solventes de acuerdo a la polaridad de los componentes presentes en la planta. (Heinze & Ontiveros). Varios de los fármacos que son de gran utilidad han sido aislados de plantas, como la aspirina, la morfina, la reserpina, así como la mayoría de los antibióticos, entre otros. Sin embargo, el uso de plantas medicinales no se encontraba muy distribuido sino a partir de 1970, con el ingreso de China a la Organización Mundial de la Salud, hubo una apertura política y científica. Pocos años después, la OMS publicó el primer manual de medicina herbolaria. (Heinze & Ontiveros). Debido al acceso limitado a los servicios de salud o a la falta de posibles tratamientos efectivos se ha recurrido a la medicina herbolaria, con la finalidad de buscar nuevos compuestos con propiedades farmacológicas, que posean mayor eficacia y menos efectos secundarios.

La finalidad del presente es evaluar los efectos farmacológicos de algunas especies de plantas en modelos animales para determinar sus posibles efectos como antibiótico, se analizaron microbiológicamente los extractos con fines de estandarizar su composición, con el propósito de generar principios activos con potencial en aplicación tópica.

A partir de este conocimiento se tienen las pautas para realizar estudios acerca de los constituyentes activos de las plantas y respaldarlo con la tecnología y conocimiento en la farmacéutica actual para así obtener un fitofármaco estandarizado, normalizado y estabilizado con actividad antibiótica. Además de su actividad antibiótica, la ceiba demostró propiedades de antidepresivo, tras una aplicación vía oral del extracto con agua inyectable a ratones, ya que se realizó una prueba a estos en la División de Ciencias Naturales y Exactas en el Campus Guanajuato, se observó que a mayor cantidad de extracto aplicado, hubo un menor estado de reposo en estos, por lo que podemos destacar que como antidepresivo también es funcional.

## Metodología y materiales

### Obtención de extractos

El extracto de ceiba se realizó agregando 50.28 gramos de ramas y hojas trituradas a un matraz, luego se añadieron 300ml de alcohol etílico de 96°. Se dejó reposando un mes en un contenedor de reactivos, al transcurrir el tiempo se colocó en placas petri para evaporar el solvente en una parrilla magnética al número 3 (<50°C), agitándolo periódicamente con una espátula para no pegar el extracto.

El extracto de chicalote fue elaborado con 20.28 g de hojas, ramas y un poco de semillas triturado en un matraz junto con 350 ml de alcohol etílico, se dejó reposar tapado con parafilm por 3 semanas, posteriormente se llevó a placas y se colocaron en parrillas magnéticas, calentándose al número 3 (<50°C) y agitando con una espátula hasta sequedad.

### Medio de cultivo

Para realizar el medio de cultivo fue seleccionado un agar nutritivo con el fin de obtener una mayor variabilidad de bacterias, se añadió 11.5 g de agar nutritivo en 500 ml de agua destilada, en un vaso de precipitado. Se calentó en parrilla al igual que fue mezclado con agitador magnético.

Posteriormente, se llevó a la autoclave de modo que se dividió el contenido en 2 matraces Erlenmeyer de 500 ml (cada matraz contenía 250 ml de solución), se taparon con tapón de gasa y ambos matraces se mantuvieron dentro del autoclave hasta llegar a 121 grados celsius y 205 kPa de presión para la esterilización de la solución.

Posteriormente, se elaboró más medio de cultivo, para aislar colonias de bacterias que se obtuvieron de las muestras mencionadas anteriormente. Para ello se incluyó 17.25 g de agar nutritivo en 750 ml de agua destilada, dentro de un vaso de precipitado. Se calentó y mezcló con agitador magnético hasta que se disolviera por completo la solución. El contenido se dividió en dos matraces Erlenmeyer (375 ml en cada matraz). Se taparon ambos con tapones de gasa y se colocaron dentro del autoclave hasta llegar a las condiciones mencionadas con anterioridad.

En ambos casos, lo que se realizó tuvo la misma metodología: esterilizar la zona de trabajo y desinfectar exteriormente los paquetes de cajas petri con alcohol etílico, se encendieron dos mecheros para trabajar entre ellos. Posteriormente, se sacaron los matraces con las soluciones y se colocó la mezcla en las cajas. Finalmente, se dejaron enfriar en la mesa de trabajo 24 horas.

### Obtención de bacterias

Para la inoculación de bacterias se tomaron muestras bacterianas comensales de la piel y orificios. Para ello, se utilizaron hisopos para muestra, agua inyectable y los respectivos medios de nutritivos. En las cajas petri se registró: Fecha, identificación de la muestra y parte del cuerpo de donde se tomó.

### Aislamiento de colonias y adición de extractos

Una vez obtenidas las colonias bacterianas se realizó un aislamiento de las diferentes especies encontradas en cajas Petri 12 cajas en total. Este proceso se realizó tomando una muestra de bacteria de una caja con un asa caliente y transportando la muestra posteriormente a un nuevo gel. Una vez inoculadas las placas se procede a aplicar 0.03 gr de extracto de *Ceiba aesculifolia* y chicalote (*Argemone mexicana*) por duplicado con la finalidad de que las bacterias crecieran de manera uniforme en el agar. Los extractos se añadieron en el centro del agar y con el observar el campo de inhibición debido a la posible acción antibiótica de los extractos. Las placas se dejaron incubar a 37 °C.

### Tinción Gram

Para la tinción se tomó una pequeña muestra de bacterias con un asa bacteriológica y se dispersaron en el respectivo portaobjetos, luego se pasó la parte de abajo por el fuego para fijar a las bacterias, se usó el kit de tinción de Gram bacteriología Merck Millipore. A continuación, se colocaron primero 3 gotas de solución de violeta cristal, seguido de un minuto y medio, se puso un chorro de agua destilada, 30 segundos después,

se agregó solución de Lugol, y se dejó reposar por 3 minutos y nuevamente se agregó otro chorro de agua destilada, posteriormente se acompañó con alcohol de acetona como solución decolorante, luego de 30 segundos se adicionó safranina, más agua destilada y unas últimas gotas de acetona.

## Resultados y discusión

Una vez obtenidas las colonias bacterianas se realizó un aislamiento de las diferentes especies encontradas en cajas Petri obteniendo en total 12 cajas con diferentes bacterias inoculadas y con aplicación de extracto. Posterior al periodo de incubación de las placas a 37 °C crecieron bacterias en 9, a excepción de 3 placas que se quedaron a temperatura ambiente (25°C). Para las primeras se registró crecimiento bacteriano pasadas 24 horas, mientras que en el segundo caso pasaron 72 horas para registrar crecimiento. A partir de las colonias aisladas se tomó una muestra, se realizó la tinción de Gram para cada una y se obtuvo la información que se muestra en la *tabla 1*.

**Tabla 1.** Características de las colonias aisladas





















| No. De identificación | Datos      | Características de colonia bacteriana                              |
|-----------------------|------------|--|
| 1                     | 29/06/22   | - Borde irregular<br>- Color blanco mate                           |
|                       | Nariz      | - Forma irregular con bordes brillosos                             |
| 2                     | 29/06/2022 | - Borde brillante e irregular<br>- Colonias circulares             |
|                       | Pie        | - Color amarillo claro   |
| 3                     | 29/06/2022 | - No se logró aislar   |
|                       | Boca       |  |
| 4                     | 28/06/2022 | - Colonias con formas irregulares<br>- Bordes brillosos            |
|                       | Cabeza     | - Colonias color café  |
| 5                     | 28/06/2022 | - Colonias de forma irregular<br>- Bordes irregulares y brillantes |
|                       | Cara       | - Superficie lisa<br>- Colonias color amarillo                     |
| 6                     | 28/06/2022 | - Colonias de forma irregular<br>- Bordes irregulares y brillantes |
|                       | Boca       | - Superficie lisa<br>- Colonias color verde-amarillo               |
| 7                     | 29/06/2022 | - Colonias circulares con bordes regulares<br>- Superficie lisa    |
|                       | Oreja      | - Bordes de colonias brillantes<br>- Colonias color verde claro    |

De acuerdo a la tinción de Gram realizadas a las placas petri se pudieron aislar exitosamente 8 placas con bacterias gram negativas (1, 2, 3, 5, 7, 8, 9 y 12), y 2 gram positivas (10 y 11).

Se identificó que de las doce colonias aisladas donde se realizó la aplicación de los extracto hubo inhibición bacteriana en diez placas: En seis placas (12, 11, 8, 10, 1 y 9) con extracto de chicalote y 4 placas con extracto de ceiba (4, 7, 5 y 3). Las dos placas restantes fueron desechadas debido a que no mostraron efectividad antibiótica o no se pudieron aislar por cuestión de tiempo y metodología

Como se muestra en la Tabla 2, los extractos de ceiba y chicalote aplicados en las placas muestran una actividad biocida; por ejemplo, en las placas 4 y 8 fue eficaz en la inhibición del crecimiento bacteriano, presentando el mayor efecto inhibitorio en bacterias del tipo bacilos.

**Tabla 2.** Resultados de eficacia de extractos e identificación de bacterias

| N.º de placa | 1   | 3   | 4   | 5   | 7   | 8   | 9   | 10   | 11  | 12  |
|--------------|---|---|---|---|---|---|---|--|---|---|
| Extracto     | Chicalote   | Ceiba   | Ceiba   | Ceiba   | Ceiba   | Chicalote   | Chicalote   | Chicalote  | Chicalote   | Chicalote   |
| Morfología   | Cocos   | Cocos   | Bacilos   | Cocos   | Cocos   | Bacilos   | Bacilos   | Cocos  | Cocos   | Cocos   |
| T. Gram      | (-)   | (-)   | (-)   | (-)   | (-)   | (-)   | (-)   | (+)  | (+)   | (-)   |
| Cultivo      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| M. 100x      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

Durante la metodología de la incubación de bacterias en el medio de cultivo se reconoció que las placas 4, 8 y 11 no habían desarrollado colonias en su superficie por lo que se decidió descartar dichas placas, sin embargo, a la mañana siguiente se observó que habían crecido colonias al dejarlas en temperatura ambiente, por ende, se concluyó que se trataba de bacterias hipotérmicas. En la placa 4 se añadió extracto de ceiba y en las placas 8 y 11 se añadió chicalote, se observó que no sólo las bacterias fueron inhibidas eficazmente, sino que los extractos demostraron más potencia sobre las bacterias hipotérmicas.

De acuerdo con la biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana de la UNAM se comprobó que el extracto etanólico de las ramas de *A. mexicana*, presenta actividad antibiótica contra las bacterias *Staphylococcus Aureus* y *Bacillus Subtilis*, acción ejercida también por el aceite de la semilla sobre estos organismos. Además, la actividad antibiótica de los extractos etanólicos obtenidos de la corteza del tallo y las hojas de la ceiba, sobre dichas bacterias. (2009) mientras que los extractos de ceiba muestran una inhibición en bacterias tipo coco gram negativo.

## Conclusiones

El extracto de ceiba mostró actividad biocida en cultivos aislados de bacterias gran negativa y positivas de tipo coco y bacilo siendo una opción viable para el desarrollo de un vehículo farmacológico.

## Referencias

Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. UNAM.

(2009). <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=argemone-mexicana>

Heinze, G., & Ontiveros, M. (1998). La fitofarmacología como tratamiento alterno en psiquiatría. *Salud Mental*, 21(6),33-42.

[http://www.revistasaludmental.mx/index.php/salud\\_mental/article/view/726/725](http://www.revistasaludmental.mx/index.php/salud_mental/article/view/726/725)

Ryan K.J., y Ray C. eds. Sherris. (2017). *Microbiología médica*. 8e. McGraw Hill.

<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2169&sectionid=162978735>