



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

VALORACION "IN VITRO" DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA
DE LA Larrea tridentata CONTRA HONGOS PATOGENOS
PARA EL HOMBRE.

TRABAJO RECEPTACIONAL

que para obtener el título de
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

p r e s e n t a :

SILVIA BARRAGAN RAMOS

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P.

1993



T.
QR245
B3
C.1



1080075334



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**VALORACION "IN VITRO" DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA
DE LA Larrea tridentata CONTRA HONGOS PATOGENOS
PARA EL HOMBRE.**

TRABAJO RECEPCIONAL

que para obtener el título de
QUIMICO FARMACOBIOLOGO

p r e s e n t a :

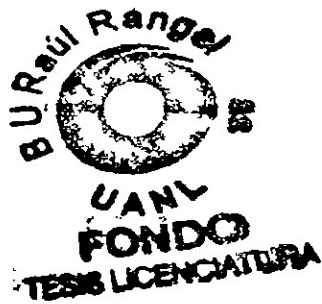
SILVIA BARRAGAN RAMOS

SAN LUIS POTOSI, S.L.P.

1993



T
Q R 245
B 3





UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

VALORACION "IN VITRO" DE LA ACTIVIDAD
ANTIMICOTICA DE LA Larrea tridentata
CONTRA HONGOS PATOGENOS PARA EL HOMBRE.

TRABAJO RECEPCIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACOBIOLOGO
PRESENTA:
SILVIA BARRAGAN RAMOS

Asesor: Q.F.B. Alicia Zavalza Stiker
Coasesor: G.F.B. María Genoveva Alvarez Ojeda.



SAN LUIS POTOSI., S.L.P.

1993.

Con todo cariño dedico este
trabajo a mis padres

**Aurora y
Manuel**

A quienes quiero tanto y que con
su apoyo, sacrificio, confianza y
buen ejemplo, forjaron en mí, el
deseo de superarme, en la vida.

A Fernando y Magdalena
que con su amor y confianza
supieron apoyarme para lograr
mi superación.

Al gran equipo que forma
el laboratorio de Micología
por el compañerismo, estímulo
y amistad.

**Q.F.B. Blanca Ortiz Saldivar
Q.F.B. Ma. de los Angeles Veras
Q.F.B. Magdalena R. G.**

Un agradecimiento especial a una
mujer que admiro por el entusiasmo
que pone en su trabajo y el valor
humano que ofrece a quienes de una u
otra manera hemos tenido el gusto de
convivir con ella, Gracias

Q.F.B. Alicia Zavalza Stiker

Para Genoveva:

Quien me enseñó que con
esperanza, fortaleza y confianza
todo se logra en esta vida.

A Ignacio:

Por el afecto y amistad
que nos unieron a seguir
adelante y alcanzar cada
uno su ideal.

Agustín:

Por acompañarme en esta
etapa de mi vida, de quién
tengo hermosos recuerdos,
ejemplos vivos de amor,
ternura y superación.

I N D I C E

RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
ANTECEDENTES	5
OBJETIVOS	9
MATERIAL	10
METODO	11
RESULTADOS	14
TABLAS DE RESULTADOS	17
FOTOGRAFIAS	25
DISCUSION	29
CONCLUSIONES	30
APENDICE	31
BIBLIOGRAFIA	33

RESUMEN:

La Larrea tridentata es una planta Zigophyllácea que crece en los terrenos áridos y no aptos para la agricultura, ya que llega a desarrollarse en condiciones de extrema sequía. Abunda en los Estados de Baja California, Chihuahua, Durango, Sinaloa, Zacatecas, Tamaulipas, Coahuila, y en el Altiplano Potosino.

Los habitantes de estas regiones, basándose en observaciones empíricas han encontrado en ellas, algunas "bondades curativas", la mayoría de ellas más producto de la imaginación o de la necesidad que de una acción concreta.

En su composición química se han identificado dieciocho flavonoides, aceites volátiles, ceras y un grupo de compuestos fenólicos llamados lignanos entre los que sobresale el ácido nordihidroguayarático que es obtenido y aprovechado a nivel industrial por su acción antioxidante.

Además de este ácido, en la resina se ha demostrado la presencia de ácido dihidroguayarático y ácido guayarático metilado, compuestos con acción antimicótica para hongos fitopatógenos.

En este estudio se evaluó la actividad antimicótica de la planta sobre hongos patógenos para el hombre, a partir de dos extractos acuosos, uno de ellos preparado a partir de la planta seca adquirida en los mercados de nuestra ciudad y el otro a partir de tallos y hojas de la planta fresca colectada en los alrededores de la misma. Se valoró también la actividad de la resina obtenida por extracción etanólica.

La metodología consistió en efectuar series de tres cultivos de las suspensiones de los hongos en los medios adecuados para cada uno de ellos, añadiendo al primero extracto de hojas y tallo de planta recién colectada, al segundo extracto acuoso de hojas secas y al tercero una solución de resina. En cada serie se trabajó a una concentración diferente y aquella en que se inhibió completamente el desarrollo fué considerada Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Al mismo tiempo, un cuarto cultivo en medio sin extracto fué empleado como testigo.

Se incluyeron en la investigación hongos causantes de micosis superficiales, subcutáneas, profundas y oportunistas. De las primeras se eligieron siete Dermatofitos; del género Trichophyton: T. rubrum, T. tonsurans, T. mentagrophytes y T. verrucosum. Del género Microsporium: M. canis y M. gypseum, por último del género Epi-dermophyton su especie Epidermophyton floccosum.

En este grupo se obtuvieron buenos resultados; la mayoría de las especies se inhibieron a la concentración del 0.5% de los extractos acuosos, así como a 350 ppm de resina.

De los agentes productores de micosis subcutáneas se estudió el efecto sobre Sporothrix schenkii, Fonsecaea pedrosoi, Nocardia brasiliensis, N. asteroides y N. otitis caviarum. Estos últimos tres son bacterias superiores y causan enfermedades semejantes a las micosis.

S. schenkii y F. pedrosoi se inhibieron con el extracto de planta fresca a la concentración del 1% y con la resina a 350 ppm. El género Nocardia mostró gran sensibilidad inhibiéndose a concentraciones de 0.175% de ambos extractos acuosos y a las 150 ppm de resina.

Se estudio la sensibilidad de Histoplasma capsulatum, Paracoccidioides brasiliensis y Coccidioides immitis, agentes etiológicos de micosis profundas solo ante los extractos acuosos a las concentraciones de 0.25% y 5% siendo efectiva esta última.

De las micosis oportunistas Criptococcus neoformans fue sensible a las concentraciones del 0.25% de los extractos acuosos y a 100 ppm de la resina. Candida albicans fue el agente con menor sensibilidad y sólo se inhibió parcialmente frente a los extractos acuosos del 5% y a 400 ppm de resina.

Después de obtener resultados tan satisfactorios y siendo esta planta adaptable a condiciones adversas como lo es la aridez, consideramos a la Larrea tridentata una fuente de estudio que con interés e ingenio el hombre pueda desarrollar en múltiples aspectos industriales y farmacológicos.

Valoración "in vitro" de la actividad antimicótica
de la planta Larrea tridentata

INTRODUCCION:

La Larrea tridentata pertenece a la familia de las Zigofiláceas, es una planta subleñosa que se encuentra en las regiones áridas del norte del país, en los estados de Baja California, Chihuahua, Durango, Sinaloa, Sonora, Zacatecas, Tamaulipas, Coahuila y en la zona del Altiplano Potosino (1,2,3).

En éstos lugares abunda, pero no es apta para el pastoreo -- por su intenso olor, debido a su alto contenido de resinas y componentes fenólicos que la hacen repulsiva para el ganado. En su composición química también se han identificado, aceites esenciales, resinas, taninos, carotenos, ácido oxálico, ácido cinámico, sustancias reductoras, gomas y saponinas, además de un grupo de lignanos entre los cuales se encuentra el ácido guayarético, norisoguaiacin, 3-Demetoxyisoguaiacin, ácido dihidroguayarético y el ácido nordihidroguayarético, éste último retarda la rancidez de las grasas y tiene propiedades germicidas y antioxidantes. (1,2,4)

Sus aplicaciones en medicina casera son ampliamente conocidas, localmente su infusión se ha empleado como desodorante y en fomentos para escoriaciones y heridas de la piel. Ingerida se usa contra disurias, desórdenes intestinales y para disolver cálculos renales y vesicales, en el laboratorio se ha comprobado su capacidad para disolver "in vitro" cálculos de uratos. (3)

En las comunidades de nuestro estado en las que existe esta planta, se usa finamente molida como talco en los pies para curar cuadros sugestivos de pie de atleta.

Industrialmente se ha utilizado para la elaboración de jabones, cremas y parafinas, así como para desincrustar los tubos ensarrados de las calderas. (3,4)

Durante la última guerra mundial, familias alemanas residentes en las ciudades de Saltillo, Coahuila y México, compraban grandes cantidades de Larrea que, comprimida en briquetas, era exportada a Alemania para ser usada en mezcla con la pólvora en la fabricación de luces de señales y en el tratamiento exterior de cartuchos laminados y de cartón, todo esto por el alto contenido de resina de las hojas. (1,2)

Por otra parte, grandes laboratorios como Merck, antes y durante la guerra sujetaron a esta especie vegetal a una rigurosa investigación química en la rama médica e industrial, trabajo de investigación que desgraciadamente después de la última conflagración mundial ha permanecido ignorado, el Dr. Kauffman uno de los fundadores de la Universidad de Munich-Alemania, quien trabajó con los hermanos Curie, fué encargado de confeccionar combustible sintético de alta potencia, usando como materia prima la Larrea. (3,5)

ANTECEDENTES:

Un 36.4% de la superficie del globo terrestre es ocupado por las regiones áridas y semiáridas, y si bien es cierto que el hombre ha creado mucho más desierto del que ha habitado, también es verdad que es extremadamente importante orientar la ciencia hacia la recuperación de esas zonas y dar significación económica tanto al bosque como al desierto, haciendo una explotación racional de los recursos que proporcionan.

La Larrea es una planta Zigophyllácea poco o nada explotada, que crece en los suelos alcalinos de las zonas de México más secas sobre todo en las llanuras con suelo profundo. Así como las partes inferiores de los abanicos aluviales, pero se encuentra muchas veces en las laderas de los cerros. (3,6)

En México, en el altiplano potosino y en el Edo. de Nuevo León se encuentra en abundancia la Larrea tridentata, arbusto que no pasa de los 2 mts. de altura en algunas zonas y que en otras como en las estribaciones de la Sierra del Diablo, localizada en los límites entre Coahuila y Chihuahua alcanza hasta 4 mts. de altura (3) y que tiene un potencial de explotación muy atractivo, pudiendo obtenerse a partir de ella productos tan variados como: Forraje para el ganado, celulosa, antioxidantes, resinas no tóxicas, ceras, aceites, jabones, taninos, barnices, etc; (3,4), además de una serie de principios activos que pueden ser útiles para el hombre, entre ellos compuestos químicos del grupo de los lignanos, dímeros oxigenados del fenilpropano (C6-C3), (1) entre los que se ha identificado el ácido dihidroguayarático y el ácido nordihidroguayarático entre otros, con una intensa actividad antifúngica. (3).
ESQUEMA No. 1.

Este vegetal es altamente resistente a las sequías, ya que subsiste en terrenos que registran una precipitación pluvial que va desde los 100 hasta los 125 mm anuales. Su poder de retención de la humedad es extraordinario y en ello ayuda su compacta formación intercelular forrada exteriormente por una combinación de resinoles y barnices mucilaginosos cuticulares que le permiten soportar bajas temperaturas. (3)

Variedades de Larrea

El género Larrea Cav, nativo de América se halla representado en la república de Argentina por 4 especies típicas de las regiones áridas y semiáridas donde forman comunidades arbustivas abier--

tas, xerófilas, conocidas con el nombre "jarrilleras".

Larrea cuneifolia Cav.,
Larrea divaricata Cav.,
Larrea nitida Cav.,
Larrea ameghinoi Cav.,

Las tres primeras especies mencionadas presentan la particularidad de tener cubiertos sus nudos, parte de sus hojas y tallos por una resina muy pegajosa de olor fuerte y peculiar, color pardo--amarillento a la observacion microscópica. (3)

Algunas de estas, segun propone J. z Hunziker, viajaron del sur y después de miles de años de evolución se convirtieron en la especie tridentata, característica del Norte de America. En el paisaje de los desiertos Chihuahuenses, Sonorenses y de Mojave es inconfundible su presencia, en donde ha tomado diversas estructuras cromosomáticas. (3)

Anatomía foliar

Las especies de Larrea se diferencian por la morfología externa de sus hojas (1). La posición más alta del estoma se relaciona directamente con la espesa capa resinosa de la hoja.

Además de la posición del tejido de soporte que en la Larrea es esclerénquima, varía en las distintas especies.

Mesófilo.— Todas las especies tienen hojas isolaterales; el parénquima en empalizada se dispone a ambos lados de las hojas; generalmente hay 5 o 6 capas de tejido y el esponjoso, en pequeña proporción está limitado a la parte central del mesófilo.

Tejido vascular.— La nervadura media esta formada por un haz vascular simple de contorno más o menos elíptico, aplanado adaxialmente y donde el floema rodea al xilema. El haz central suele ir acompañado por 1 o 2 haces laterales. En todos los casos hay parénquima medular.

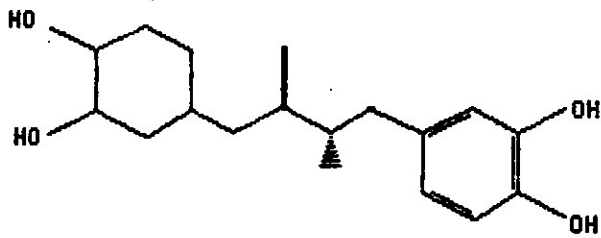
Pecíolo.— Sus tejidos vasculares en forma de haz único asumen al igual que en la nervadura media foliar un contorno más o menos elíptico, pero aplanado adaxialmente. También la disposición y clase de tejido esclerénquimático permite la diferenciación entre las especies.

Se ha cortado material de Larrea tridentata para comparar con L. divaricata a raíz que se han suscitado controversias respecto a si se trata de la misma especie que habita en toda América o si son entidades taxonómicas diferentes.

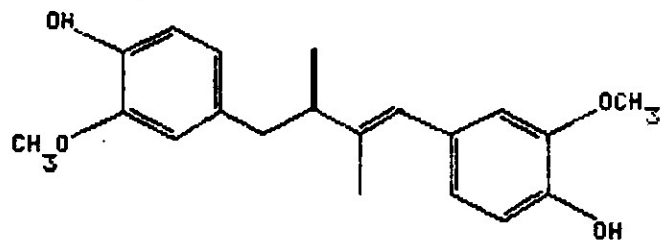
El estudio anatómico de las hojas y peciolo ha permitido establecer algunas diferencias, lo que corroboraría la opinión de los botánicos que sostienen que se trata de especies distintas.

La Larrea tridentata de Estados Unidos y México pueden diferenciarse anatómicamente de Larrea divaricata Argentina por el esclerénquima que acompaña a la nervadura foliar media y en forma práctica por el tamaño del arbusto, pues L. tridentata llega a alcanzar alturas de más de 4 mts. (3)

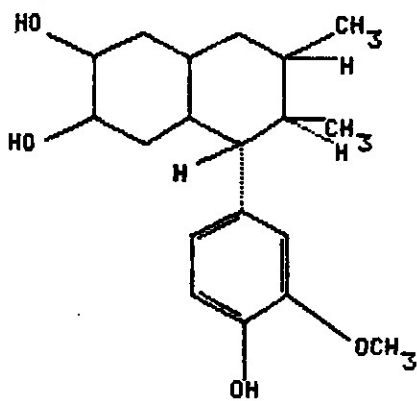
ESQUEMA 1



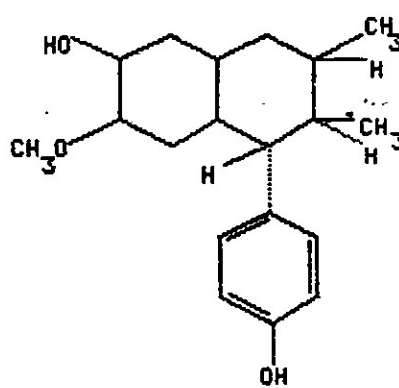
Acido Nordihidroguayarético



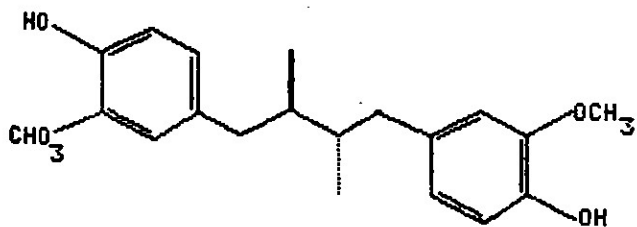
Acido Guayarético



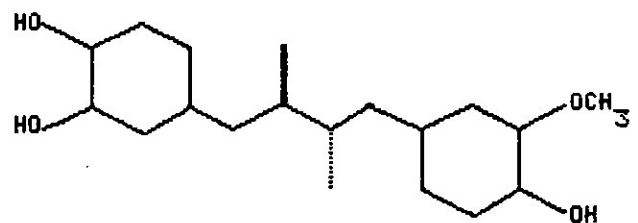
Norisoguaiacin



3'- Demethoxyisoguaiacin



Acido dihidroguayarético



Acido dihidroguayarético
parcialmente demetilado

LIGANOS DE Larrea tridentata

OBJETIVOS:

Demostrar "in vitro" el poder antimicótico de Larrea tridentata contra hongos patógenos para el hombre, productores de micosis superficiales, subcutáneas profundas y oportunistas.

Separar los principios activos por medio de dos extracciones acuosas, una de ellas preparada a partir de hojas secas y la otra - usando tallos y hojas de la planta recién colectada.

Recuperar la resina de la planta por extracción etanólica seguida de destilación y evaluar su acción de la misma manera que para los extractos acuosos.

Determinar la sensibilidad de cada uno de los hongos, así como obtener un espectro general de la acción antimicótica de la planta a partir de los diferentes extractos.

Comparar los resultados obtenidos con los tres extractos, para seleccionar en estudios posteriores el de mayor actividad antifúngica.

MATERIAL:

Material de vidrio:

Tubos de ensayo de 150 x 16 mm
Cajas de petri
Pipetas
Vasos de precipitado
Refrigerante Serpentin
Matraz balón
Perilla

Otros:

Asa bacteriológica calibrada
Asas bacteriológicas
Soporte universal
Mechero Bunsen

Aparatos:

Estufa bacteriológica (J. M. Ortiz)
Autoclave de capacidad de 12 litros

Medios de cultivo: (Merck)~~~

Agar Sabouraud Dextrosa~~~
Agar Infusión Cerebro y Corazón (Bioxon)~~~
Agar Micobiotic (DIFCO)~~~
Agar Bacteriológico (Bioxon)~~~

Sustancias:

Etanol
Azúcar mascabada

~~~ Vease su preparación en el apéndice

## METODO:

En la primera parte del estudio, para demostrar la acción antimicótica de la Larrea tridentata se utilizó un extracto acuoso de la misma, preparado mediante la decocción de ramas del arbusto, probando en forma paralela la planta seca expandida en las hierberías de mercados. Se usaron concentraciones descendientes del 5,4,3,1, 0,25, 0,5, y 0,175%; cada uno de éstos extractos se preparó hirviendo la cantidad correspondiente de la planta durante media hora en el volumen adecuado de agua destilada; en el caso de Candida albicans fué utilizada una concentración del 10%.

Estos extractos fueron incorporados a los medios de cultivo sustituyendo el agua necesaria en su preparación por un volumen equivalente al extracto acuoso.

Se usó el medio de Micosel incubado a 28°C para probar la acción antimicótica contra los siguientes hongos: M. canis, M. gypseum, I. rubrum, I. mentagrophytes, I. tonsurans, I. verrucosum; Epidermophyton floccosum; Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis, Paracoccidioides brasiliensis, Fonsecaea pedrosoi, Sporothrix schenkii (fase micelial).

El medio A.S.D. incubado a 28°C para Candida albicans, Cryptococcus neoformans, N. asteroides, N. otitis caviarum y N. brasiliensis.

Se empleó en medio BHI incubando a 37°C para probar la fase levaduriforme de Sporothrix schenkii.

La técnica empleada para cultivos fue sembrando en cajas de petri suspensiones de cepas, preparadas con una asada de cultivo puro en 0,02 ml de solución salina. Para facilitar el manejo de las mismas, se usaron cajas de petri, a excepción de los hongos de micosis profundas, que se trabajaron en tubos de ensaye de 150 x 75 mm preparados en pico de flauta.

Los medios fueron inoculados a partir de dichas suspensiones inoculando por triplicado con una asa calibrada (0,005 ml) un juego de 3 cajas, una de ellas conteniendo el medio más extracto de la planta recién colectada, otro con extracto de la planta seca y por último una caja testigo en la cual el medio de cultivo estaba excen-

to del extracto. Enseguida se procedió a incubar por un periodo de doce días a temperatura ambiente, o a 37°C según correspondiese, -- chequeando el crecimiento de las colonias cada cuatro días. En el testigo y en los problemas en que hubo desarrollo se procedió a medir el diámetro de las colonias y comparando el tamaño de las mismas se estableció el poder inhibitorio de nuestro extracto.

Aclaremos nuevamente que las cepas causantes de micosis profundas (Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis y Paracoccidioides brasiliensis) sólo fueron probadas con extractos de concentraciones del 5 y 0.25% por el riesgo que implicaba manejarlas sin las medidas de seguridad adecuadas, prolongando por tres semanas su periodo de incubación.

En una segunda etapa del trabajo mediante una extracción etanólica se obtuvo la resina de la Larrea tridentata de la manera siguiente:

15 gr. de la planta completa (tallo y hoja) más 100 ml de -- alcohol etílico en un matraz balón de fondo plano adaptado a un refrigerante, se sometieron a ebullición por un periodo de 30 minutos y se procedió a filtrar el extracto para eliminar los residuos sólidos de la planta; posteriormente se destiló el alcohol quedando como producto final la resina; que presenta un aspecto ligeramente oleoso, y un color café oscuro con una fragancia muy característica de la Larrea. El mismo procedimiento se llevó a cabo utilizando hoja, tallo y ambos, para determinar que parte de la planta contenía resina, quedando comprobado que esta se encuentra tanto en el tallo como en las hojas, pero con una mayor concentración en estas últimas.

En esta segunda etapa fue valorada la acción antimicótica de la resina con un procedimiento similar al seguido para el extracto acuoso, siguiendo el esquema anterior de medios de cultivo, inoculación, incubación y revisión de cepas, con la única diferencia de -- que se manejaron solo dos cajas, medio testigo y medio añadido de -- resina de la planta completa, repitiendo el mismo proceso para cada una de las concentraciones a probar.

Fueron utilizadas concentraciones de 100, 200, 300, 350, 400 ppm solamente para los Actinomycetos del género Nocardia (que incluyen las tres especies N. asteroides, N. caviae y N. brasiliensis) -- se estudió la concentración de 150 ppm al notar que su susceptibilidad era superior a la de los hongos estudiados, la fase levaduriforme.

me de S. schenkii fue probada a las concentraciones ya mencionadas, pero se utilizó el medio BHI incubando a 37°C.

Las cepas causantes de micosis profundas, (Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis y Paracoccidioides brasiliensis) no fueron incluidas en esta parte del estudio debido a que no se contaba ya con ellas.

Tomando en cuenta la alta susceptibilidad de los Actinomyce-  
tes frente a los extractos acuosos, en esta etapa se incorporó al estudio una cepa de Actinomadura pelletieri, que fue probada a las concentraciones de 100 y 300 ppm de resina.

## RESULTADOS:

Mediante este estudio se logró demostrar que una gran variedad de hongos patógenos para el hombre son sensibles "in vitro" a los principios activos de la Larrea tridentata, de la misma manera que en otros estudios se ha demostrado este efecto sobre hongos fitopatógenos.

Esta acción esta presente en la resina de la planta, así como en los extractos acuosos de la misma, pero las diferentes especies micóticas muestran diversos grados de sensibilidad.

### Dermatofitos:

En este grupo la inhibición "in vitro" fué completa en ambos extractos acuosos, a las concentraciones del 5,4,3,1 y 0.5%; esta inhibición ya que no es absoluta al 0.25% pues T. mentagrophytes, presenta ligero desarrollo en ambos extractos, así como T. verrucosum y M. gypseum, también crecen a esa concentración en el extracto de hojas secas.

A la concentración del 0.175% ya no hay efecto inhibitorio para los dermatofitos en ninguno de los agentes. TABLA No. 1

Empleando la resina, los dermatofitos presentaron inhibición total a las concentraciones de 400 y 350 ppm, mientras que a la de 300 ppm solo T. tonsurans y E. floccosum presentaron inhibición absoluta. Estas especies al igual que M. canis, T. rubrum, y T. mentagrophytes fueron parcialmente inhibidas hasta 100 ppm; el resto de las especies ya no mostró sensibilidad a esta concentración. TABLA No. 2

El género Nocardia mostró gran sensibilidad frente a los preparados de Larrea tridentata, pues fue totalmente inhibido hasta la concentración de 0.175% de ambos extractos, mientras que frente a la resina mostró inhibición absoluta hasta la concentración de 150 ppm, e inhibición parcial incluso a 100 ppm. TABLA No. 3

El efecto inhibitorio sobre Actinomadura pelletieri sólo fué

valorado con la resina a 350 ppm, presentando inhibición total a esa concentración. TABLA No. 4

#### Eumycetes:

Fonsecaea pedrosoi presentó inhibición completa en el extracto de tallo y hoja hasta la concentración del 0.5%. El extracto de hojas solo tiene acción inhibitoria parcial hasta la concentración de 3%, acción que se aprecia porque el diámetro de las colonias desarrolladas es ligeramente menor al testigo, la resina produce inhibición total a la concentración de 400 y 300 ppm. TABLA No. 4

Sporothrix schenckii (fase micelial) muestra inhibición total hasta la concentración del 1% del extracto de tallo y hoja, con una ligera sensibilidad al 0.5% y 0.25% del mismo extracto. El extracto de hoja a ninguna concentración causó inhibición total, (5, 4, 3, 1%). TABLA No. 3

La resina presenta inhibición total a 400 y 350 ppm, mientras que a 200 ppm mostró inhibición parcial. TABLA No. 4

En la fase levaduriforme presentó inhibición total en un 5 y 4% el en el extracto de tallo y hojas; a las concentraciones del 3, 1 y 0.5% se mostró parcialmente inhibido; en el extracto de hojas no se presentó inhibición a ninguna concentración probada (5, 4, 3, 1 y 0.5%); asimismo, en la resina se obtuvo una inhibición parcial a 300, 200 y 100 ppm y un efecto inhibitorio total a las concentraciones de 400 y 350 ppm. TABLA No. 4

#### Agentes etiológicos de micosis profundas:

Se obtuvo una inhibición total de los tres géneros estudiados al 5% en ambos extractos. A un 0.25% fue posible apreciar una inhibición parcial para H. capsulatum y C. immitis, en el extracto de tallo y hoja, P. brasiliensis no mostró inhibición. En el extracto de hojas solo H. capsulatum mostró inhibición parcial a esta concentración. TABLA No. 5

#### Agentes etiológicos de micosis oportunistas:

En el caso de C. neoformans se obtuvo una inhibición total hasta el 0.25% donde su crecimiento fué similar al testigo, C. albicans presentó crecimiento a concentraciones menores del 3% obtenien



dose una ligera inhibición a 10, 5 y 4%. TABLA No. 6

Al probar la resina C. neoformans mostró total susceptibilidad a las concentraciones probadas (400, 350, 300, 200 y 100 ppm), en cambio C. albicans fué susceptible solo parcialmente a 400 y 350 ppm, mientras que a 300, 200 y 100 ppm no se apreció inhibición alguna. TABLA No. 7

# **TABLAS DE RESULTADOS**

**TABLA No. 1 Efecto de los extractos acuosos de *Larrea tridentata* sobre el crecimiento "in vitro" de Dermatofitos**

| Concentración (%)                  | 5   |   |   | 4   |   |   | 3   |   |   | 1   |   |   | 0.5 |   |   | 0.25 |   |   | 0.175 |   |   |     |      |      |
|------------------------------------|-----|---|---|-----|---|---|-----|---|---|-----|---|---|-----|---|---|------|---|---|-------|---|---|-----|------|------|
|                                    | T   | C | H | T   | C | H | T   | C | H | T   | C | H | T   | C | H | T    | C | H | T     | C | H |     |      |      |
| AGENTE ETIOLÓGICO                  |     |   |   |     |   |   |     |   |   |     |   |   |     |   |   |      |   |   |       |   |   |     |      |      |
| <i>Trichophyton rubrum</i>         | ++  | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +    | - | - | +     | - | - | +   | +    | +    |
| <i>Trichophyton tonsurans</i>      | ++  | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | ++   | - | - | ++    | - | - | ++  | ++   | ++   |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++  | + | + | +++   | + | + | +++ | ++   | ++   |
| <i>Trichophyton verrucosum</i>     | ++  | - | - | ++  | - | - | ++  | - | - | ++  | - | - | ++  | - | - | +    | - | + | +     | - | + | ++  | ++   | ++   |
| <i>Microsporum canis</i>           | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++  | - | - | +++   | - | - | +++ | ++   | ++   |
| <i>Microsporum gypsum</i>          | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++ | - | - | +++  | - | - | +++   | - | - | +++ | ++++ | ++++ |
| <i>Epidermophyton floccosum</i>    | +   | - | - | ++  | - | - | ++  | - | - | ++  | - | - | ++  | - | - | ++   | - | - | ++    | - | - | ++  | ++   | ++   |

T = Testigo

C = Tallo y Hojas

H = Hojas

(+) = Colonia de 0-8 mm de diámetro  
 (++) = Colonia de 9-20 mm de diámetro  
 (+++) = Colonia de 21-30 mm de diámetro  
 (++++) = Colonia de más de 30 mm de diámetro

**TABLA No. 2 Efecto de la resina de *Larrea tridentata* sobre el crecimiento "in vitro" de Dermatofitos**

| Concentración (ppm)                | 400  |    | 350  |    | 300  |    | 200 |    | 100 |    |
|------------------------------------|------|----|------|----|------|----|-----|----|-----|----|
|                                    | T    | RC | T    | RC | T    | RC | T   | RC | T   | RC |
| <i>Trichophyton rubrum</i>         | ++   | -  | ++   | -  | ++   | +  | ++  | +  | ++  | +  |
| <i>Trichophyton tonsurans</i>      | +    | -  | ++   | -  | +    | -  | ++  | +  | ++  | +  |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | ++++ | -  | ++++ | -  | ++++ | ++ | ++  | +  | ++  | ++ |
| <i>Trichophyton verrucosum</i>     | ++++ | -  | +    | -  | +++  | +  | ++  | +  | ++  | ++ |
| <i>Microsporum canis</i>           | ++   | -  | +++  | -  | ++++ | +  | ++  | +  | ++  | +  |
| <i>Microsporum gypseum</i>         | ++   | -  | ++++ | -  | ++++ | ++ | +++ | +  | +++ | -  |
| <i>Epidermophyton floccosum</i>    | +    | -  | +++  | -  | +    | -  | +   | +  | +   | ++ |

T = Testigo

RC = Resina de la planta completa

(+) = Colonia de 0-8 mm de diámetro  
 (++) = Colonia de 9-20 mm de diámetro  
 (+++) = Colonia de 21-30 mm de diámetro  
 (++++) = Colonia de más de 30 mm de diámetro

**TABLA No. 3 Efecto de los extractos acuosos de *Larrea tridentata* sobre el crecimiento "in vitro" de hongos patógenos productores de Micosis Subcutáneas**

| Concentración (%)                              | 5   |   |     | 4    |   |    | 3   |   |    | 1   |   |    | 0.5 |    |    | 0.25 |    |    | 0.175 |    |    |
|------------------------------------------------|-----|---|-----|------|---|----|-----|---|----|-----|---|----|-----|----|----|------|----|----|-------|----|----|
|                                                | T   | C | S   | T    | C | S  | T   | C | S  | T   | C | S  | T   | C  | S  | T    | C  | S  | T     | C  | S  |
| <i>Porsaccaria pedunculata</i>                 | +   | - | +   | ++   | - | ++ | ++  | - | ++ | ++  | - | ++ | +   | -  | +  | +    | +  | +  | +     | +  | +  |
| <i>Sporothrix schenckii</i> fase micelial      | +++ | - | +++ | ++++ | - | ++ | +++ | - | ++ | +++ | - | ++ | ++  | -  | ++ | +++  | ++ | ++ | ++    | ++ | ++ |
| <i>Sporothrix schenckii</i> fase levaduriforme | +   | - | +   | +    | - | +  | ++  | - | ++ | ++  | - | ++ | ++  | ++ | ++ | X    | X  | X  | X     | X  | X  |
| <i>NoCARDIA cauzae</i>                         | +++ | - | -   | +    | - | -  | ++  | - | ++ | ++  | - | ++ | +   | -  | -  | +    | -  | -  | ++    | -  | -  |
| <i>NoCARDIA asteroides</i>                     | ++  | - | -   | ++   | - | -  | ++  | - | ++ | ++  | - | ++ | ++  | -  | -  | ++   | -  | -  | ++    | -  | -  |
| <i>NoCARDIA kwambensis</i>                     | +   | - | -   | ++   | - | -  | ++  | - | ++ | ++  | - | ++ | +   | -  | -  | +    | -  | -  | ++    | -  | -  |

T = Testigo

C = Tallo y Hojas

H = Hojas

X = No se trabajó esta concentración

(+) = Colonia de 0-8 mm de diámetro  
 (++) = Colonia de 9-20 mm de diámetro  
 (+++) = Colonia de 21-30 mm de diámetro  
 (++++) = Colonia de más de 30 mm de diámetro

**TABLA No. 4 Efecto de la resina de *Larrea tridentata* sobre el crecimiento "in vitro" de hongos productores de Micosis Subcutáneas**

| Concentración (ppm)                            | 400 |    | 350 |    | 300 |    | 200 |    | 150 |    | 100 |    |
|------------------------------------------------|-----|----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|----|
|                                                | T   | RC | T   | RC | T   | RC | T   | RC | T   | RC | T   | RC |
| <i>Fonsecaea petrosi</i>                       | ++  | -  | +   | -  | +   | +  | +   | +  | *   | *  | +   | +  |
| <i>Sporothrix schenckii</i> fase micelial      | +++ | -  | +++ | -  | +   | +  | ++  | +  | *   | *  | +   | +  |
| <i>Sporothrix schenckii</i> fase levaduriforme | +++ | -  | +++ | -  | ++  | +  | +++ | ++ | *   | *  | +++ | ++ |
| <i>Nocardia caviae</i>                         | ++  | -  | +   | -  | ++  | -  | ++  | -  | ++  | -  | ++  | +  |
| <i>Nocardia asteroides</i>                     | +   | -  | ++  | -  | ++  | -  | ++  | -  | ++  | -  | ++  | +  |
| <i>Nocardia brasiliensis</i>                   | ++  | -  | +   | -  | +   | -  | +   | -  | +   | -  | ++  | +  |
| <i>Actinomyadura pellebieri</i>                | *   | *  | +   | -  | *   | *  | *   | *  | *   | *  | *   | *  |

T = Testigo

RC = Resina de la planta completa

\* = No se trajo esta concentración

(+) = Colonia de 0-8 mm de diámetro  
 (++) = Colonia de 9-20 mm de diámetro  
 (+++) = Colonia de 21-30 mm de diámetro  
 (++++) = Colonia de más de 30 mm de diámetro

**TABLA No. 5 Efecto de los extractos acuosos de *Larrea tridentata* sobre el crecimiento "in vitro" de hongos productores de Micosis Profundas**

| Concentración (%)                    | 5  |   |   |  | 0.25 |   |    |  |
|--------------------------------------|----|---|---|--|------|---|----|--|
|                                      | T  | C | H |  | T    | C | H  |  |
| AGENTE ETIOLÓGICO                    |    |   |   |  |      |   |    |  |
| <i>Histioplasma capsulatum</i>       | ++ | - | - |  | ++   | + | +  |  |
| <i>Coccidioides immitis</i>          | ++ | - | - |  | ++   | + | ++ |  |
| <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> | +  | - | - |  | +    | + | +  |  |

T = Testigo

C = Tallo y Hojas

H = Hojas

(+) = Colonia de 0-8 mm de diámetro  
 (++) = Colonia de 9-20 mm de diámetro  
 (+++) = Colonia de 21-30 mm de diámetro  
 (++++) = Colonia de más de 30 mm de diámetro

**TABLA No. 6 Efecto de los extractos acuosos de *Larrea tridentata* sobre el crecimiento "in vitro" de hongos productores de Micosis Oportunistas**

| Concentración (%)              | 10       | 5     | 4     | 3     | 1     | 0.5   | 0.25    | 0.175      |
|--------------------------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|------------|
| AGENTE ETIOLOGICO              | T C H    | T C H | T C H | T C H | T C H | T C H | T C H   | T C H      |
| <i>Candida albicans</i>        | +++ ++ + | ++ +  | ++ +  | ++ ++ | ++ ++ | ++ ++ | +++ +++ | ++++ +++++ |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | XXX      | XXX   | ++ -  | ++ -  | - ++  | - -   | ++ -    | ++ ++ ++   |

T = Testigo  
 C = Tallo y Hojas  
 H = Hojas  
 X = No se trabajo esta concentración

(+) = Colonia de 0-8 mm de diámetro  
 (++) = Colonia de 9-20 mm de diámetro  
 (+++) = Colonia de 21-30 mm de diámetro  
 (++++) = Colonia de más de 30 mm de diámetro



**TABLA No. 7 Efecto de la resina de Larrea tridentata sobre el crecimiento "in vitro" de hongos productores de Micosis Oportunistas**

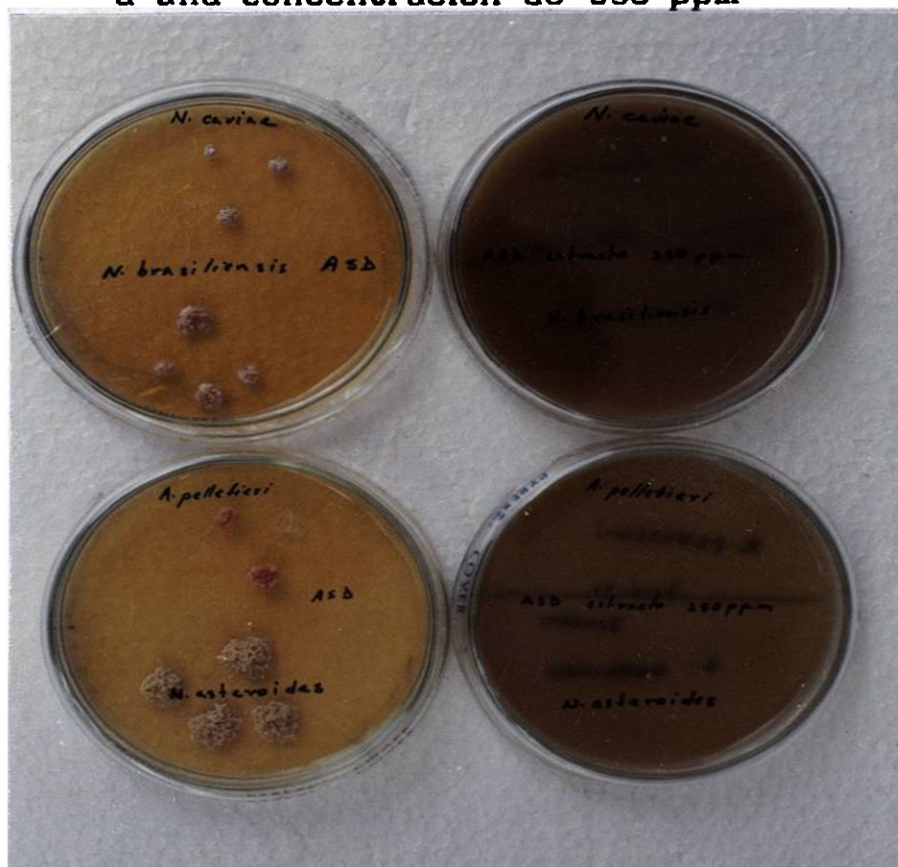
| Concentración (ppm)            | 400  |    | 350  |    | 300 |    | 200 |    | 100 |    |
|--------------------------------|------|----|------|----|-----|----|-----|----|-----|----|
|                                | T    | RC | T    | RC | T   | RC | T   | RC | T   | RC |
| <i>Candida albicans</i>        | ++++ | +  | ++++ | +  | +   | +  | ++  | +  | +   | +  |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | ++++ | -  | ++++ | -  | +   | -  | ++  | -  | +   | -  |

T = Testigo  
 RC = Resina de la planta completa

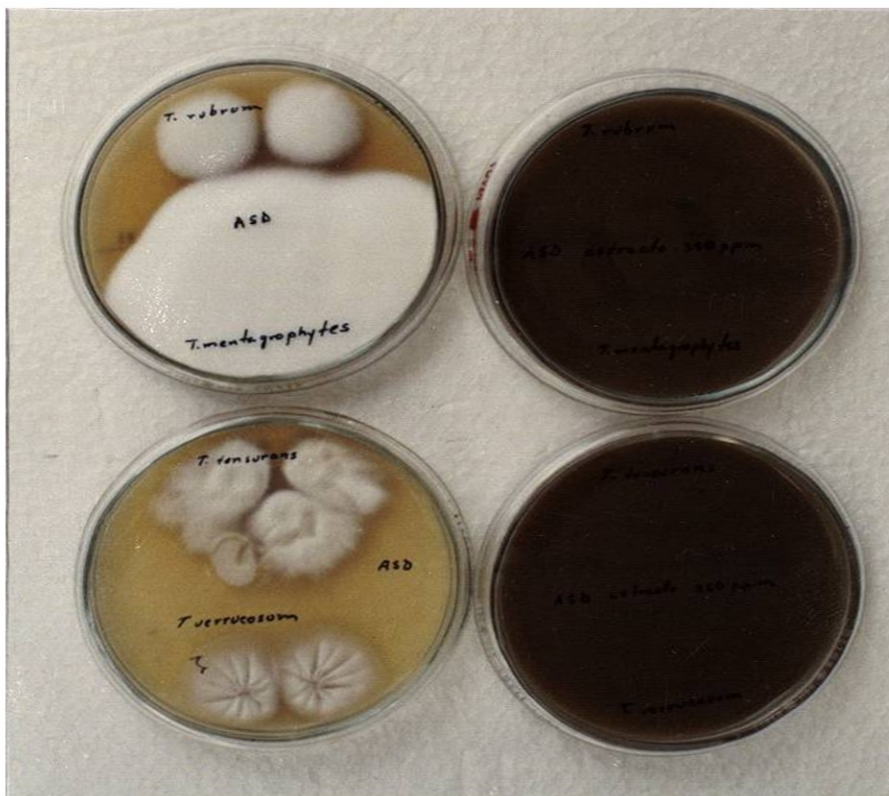
(+) = Colonia de 0-8 mm de diámetro  
 (++) = Colonia de 9-20 mm de diámetro  
 (+++) = Colonia de 21-30 mm de diámetro  
 (++++) = Colonia de más de 30 mm de diámetro

# FOTOGRAFIAS

**Acción antimicótica "in vitro" de la resina de Larrea tridentata  
a una concentración de 350 ppm**



**Fotografía No. 1 Efecto de la resina sobre N. otitis caviarum,  
N. brasiliensis, N. asteroides y A. pelletieri.**



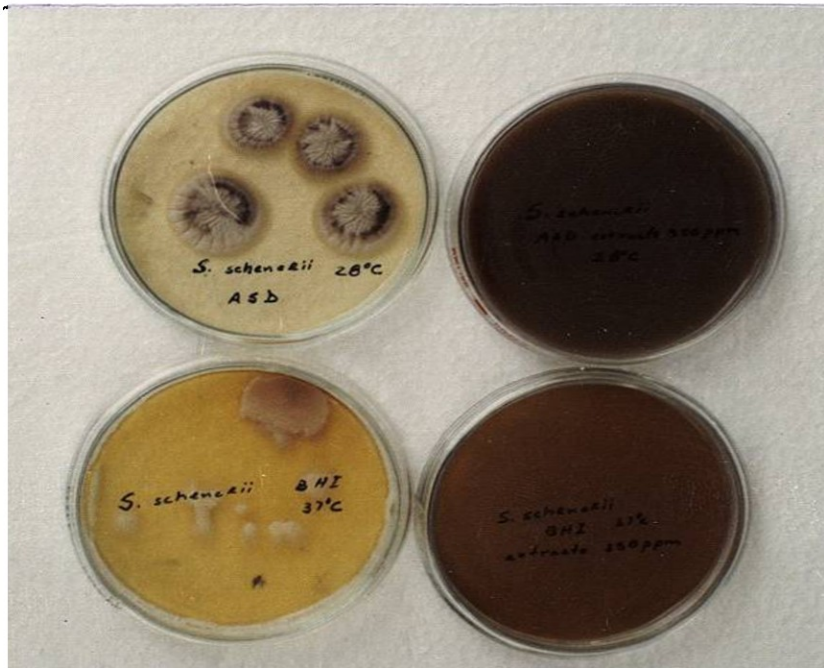
Fotografía No. 2 Efecto de la resina sobre T. rubrum, T. mentagrophytes, T. tonsurans y T. verrucosum.



Fotografía No. 3 Efecto de la resina sobre M. canis y M. gypseum.



Fotografía No. 4 Efecto de la resina sobre E. floccosum, F. pedrosoi, C. albicans y C. neoformans.



Fotografía No. 5 Efecto de la resina sobre S. schenckii fase micelial y fase levaduriforme.

## DISCUSION:

En el presente trabajo se logró demostrar la acción antimicótica de la Larrea tridentata "in vitro", sin embargo, aunque se trató de establecer una CMI, la sensibilidad del método no permitió tener resultados realmente exactos, pues mientras que en las levaduras es relativamente fácil preparar suspensiones de concentraciones conocidas, en los hongos miceliales no se cuenta con un método que permita hacerlo. Por eso mismo consideramos que para obtener ese dato con exactitud, sería necesario repetir el estudio para cada agente en otras condiciones. Pero viendo las dificultades que esto implica, antes deben valbrarse otros parámetros, entre ellos nos parece especialmente importante un estudio químico y la valoración de su toxicidad en animales.

Mediante el primero se podrían separar diferentes principios químicos de la planta, para determinar cual de ellos ejerce mayor efecto inhibitorio y menor toxicidad, para poder así pensar en un posterior uso terapéutico. Nuevas opciones que podrían sugerirse serían: el empleo como desinfectante de superficies, fumigante de semillas para mayor conservación en almacén, fumigantes de terrenos de cultivo contaminados por hongos, y la elaboración de jabones, cremas, etc.

Debemos aclarar que existe variación en cuanto a las dimensiones reportadas en el desarrollo de los cultivos testigos, en algunos casos se puede observar un crecimiento abundante ( +++ o más cruces ) mientras las mismas cepas en otra parte del estudio se observan más pequeñas, a pesar de que el período de incubación fué igual en la mayoría de los casos, esto obedece a que se trabajó a lo largo de un año con diferentes climas en cada estación y los hongos se desarrollaban mejor a temperaturas entre los 25 y 28°C que en aquellas inferiores a los 20°C.

## CONCLUSIONES:

El principal objetivo de la investigación se logró, al demostrar que "in vitro" Larrea tridentata posee principios activos con poder antimicótico muy efectivo contra hongos patógenos para el hombre, incluyendo algunas como Fonsecaea pedrosoi que es resistente a muchos fármacos, lo que significa que tiene un amplio espectro de acción.

La mayor actividad se encontró en la resina por ser más soluble en alcohol que en agua.

La sensibilidad de las cepas fúngicas fué variable, las más susceptibles la levadura oportunista C. neoformans y el género No--cardia.

Los Dermatofitos y Fonsecaea pedrosoi aunque menor sensibles que los anteriores fueron inhibidos totalmente a concentraciones intermedias.

S. schenkii se mostró un poco más resistente que los anteriores y Candida albicans solo se inhibió parcialmente a las concentraciones empleadas.

A los hongos H. capsulatum, C. immitis y P. brasiliensis no se les determinó la concentración mínima inhibitoria ante la resina sin embargo ambos extractos acuosos al 5% inhibieron el desarrollo.

**A P E N D I C E**



Preparación de medios de cultivo:

| MICROBIOTIC      | AGAR  |      |   |
|------------------|-------|------|---|
| Bacto - Soytone  | ..... | 10   | g |
| Bacto - Dextrosa | ..... | 10   | g |
| Bacto - Agar     | ..... | 15   | g |
| Actidione        | ..... | 0.5  | g |
| Cloromycetin     | ..... | 0.05 | g |

Para rehidratar el medio, suspender 35.6 g en 1000 ml de agua destilada fría, calentar a ebullición para disolver el medio. - Distribuir en 100 ml o en cantidades más pequeñas. Esterilizar en el autoclave 10 minutos a 15 lb de presión (121°C), sacar del autoclave y enfriar el medio rápidamente.

SABOURAUD DEXTROSA AGAR

|                |       |      |    |
|----------------|-------|------|----|
| Peptona        | ..... | 10   | g  |
| dextrosa       | ..... | 40   | g  |
| Agar           | ..... | 15   | g  |
| Agua destilada | ..... | 1000 | ml |

Disolver por calentamiento y esterilizar a 15 lb durante 15 minutos.

INFUSION CEREBRO CORAZON ( BHI )

|                                |       |      |    |
|--------------------------------|-------|------|----|
| Infusión de cerebro de ternera | ..... | 200  | g  |
| Infusión de corazón de res     | ..... | 250  | g  |
| Peptona                        | ..... | 10   | g  |
| Dextrosa                       | ..... | 2    | g  |
| Cloruro de sodio (NaCl)        | ..... | 5    | g  |
| Fosfato de sodio (NaH PO )     | ..... | 2.5  | g  |
| Agar                           | ..... | 20   | g  |
| Agua destilada                 | ..... | 1000 | ml |

Disolver por calentamiento y esterilizar a 15 lb durante 15 minutos.

## BIBLIOGRAFIA:

- 1 Dominguez X., Métodos de investigación Fitoquímica, México D.F., Editorial Limusa 1985 p.(127,128).
- 2 Hurtado L., Hernandez R., Hernandez F., Fernandez S., Fungi\_toxic Compounds in the Larrea resin, 1979 p.(327,329-335)
- 3 Jaime A.C., Las Tierras Áridas Mexicanas, Estudio general de -- las especies de Larrea (Zygophylláceas) y el medio físico de la zona norte de México., México 1 D.F. Serie Aridocultura 1966. p.(15-44)
- 4 Martinez M., Las plantas medicinales de México, 4a. edición, México, D.F., Ediciones Botas. 1959 p.(143,144).
- 5 Navarro C.M.E., estudio técnico preliminar de las posibilidades de industrialización de la gobernadora (Larrea tridentata), San Luis Potosí, Escuela de Química. U.A.S.L.P., 1977 p.(3-6)
- 6 Rzedowsky J., Vegetación de México, 1er. edición, México D.F., 1983 (245)
- 7 Tom J.M., Charles F.B. Larrea: Chemical Resource p.(327,331)

Nota: En ausencia de antecedentes de un trabajo similar al -- que aquí se presenta, no fué posible extender la bi--- bliografía.

*Arista 270, C.P.79000  
San Luis Potosi, SLP,*