

Elaboración de un preparado magistral a base de ajo (*Allium sativum*) y caléndula (*Calendula officinalis*) y evaluación de su actividad antimicrobiana y antimicótica.

Maribel Bermúdez Hoyos

Centro de Servicios de Salud, SENA, mbermudezh@sena.edu.co

Lina María López naranjo

Centro de Servicios de Salud, SENA, lmllopezn@sena.edu.co

Diego Alejandro Zabala González

Centro de Servicios de Salud, SENA, dzabala@sena.edu.co

Resumen

En el presente estudio se desarrolló un preparado magistral a base de ajo y caléndula para el tratamiento de la dermatomicosis. Las plantas utilizadas fueron seleccionadas debido a que son de fácil consecución y sus componentes activos tienen un vasto soporte científico. Además, ambas plantas han sido utilizadas tradicionalmente como antimicrobiano y cicatrizante respectivamente.

El material vegetal se sometió a extracción de sus metabolitos secundarios usando etanol a diferentes concentraciones. Se procedió a preparar la formulación magistral, adicionando el extracto de ajo a concentraciones de 10%, 20%, 30% y 40% y caléndula al 20%. Luego, se evaluó el poder bactericida contra *Pseudomonas aeruginosa* cepa ATCC 9027 y *Staphylococcus aureus* cepa ATCC 6538, con tiempos de contacto de 5 minutos. El poder fungicida se determinó contra el hongo dermatofito *Trichopyton rubrum* cepa ATCC 28188, con tiempo de contacto de 15 minutos. La crema con adición de extracto de ajo al 40% y caléndula al 20% mostró los mejores resultados, presentando una reducción del 99% para *P. aeruginosa*, 98.8% para *S. aureus* y 99.9% para *T. rubrum*.

El efecto antimicrobiano y antifúngico de la anterior formulación, podría servir como candidato potencial para el desarrollo de nuevos tratamientos antimicóticos que adicionalmente tengan propiedades bactericidas para prevenir posibles sobreinfecciones por flora transitoria bacteriana en el evento dermatomicótico.

Palabras clave: Bioprospección, compuestos bioactivos, dermatomicosis, antimicrobiana.

Abstract

In the present work, was developed a magistral formulation base on garlic and marigold for the treatment of dermatophytosis. The plants used were selected because of its traditional use as an antimicrobial and wound healing, respectively, easy to obtain in the market and vast scientific support of its active components.

The secondary metabolites of the plant material was extracted using ethanol at different concentrations. The magistral formulation was developed, adding 10%, 20%, 30% and 40% of garlic extract, and 20% of marigold. Then, the bactericidal power, of each formulation, against *Pseudomonas aeruginosa* strain ATCC 9027 and *Staphylococcus aureus* strain ATCC 6538 was determined, with contact time of 5 minutes. The fungicide power against the dermatophyte fungus *Trichophyton rubrum* strain ATCC 28188 was determined, with contact time of 15 minutes. The cream with addition of 40% garlic extract, showed the best results with reduction of 99% for *P. aeruginosa*, 98.8% for *S. aureus*, and 99.9% for *T. rubrum*.

The antimicrobial effect of the above formulation, could serve as a potential candidate for the development of new antifungal treatments. Additionally, with bactericidal properties, avoiding a possible infection, in a dermatophytosis, with transient flora.

Keywords: Bioprospection, bioactive compounds, dermatophytosis, antimicrobial.

1 Introducción

La dermatomicosis es una entidad de etiología micótica caracterizada por infestaciones del estrato córneo de la epidermis, uñas y pelo causados por hongos, generalmente pertenecientes a los géneros *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton* (Vasallo, 2013). Se sabe que en las últimas décadas la incidencia de infecciones causadas por dermatofitos ha aumentado considerablemente y que el *T. rubrum* es el hongo dermatofito más frecuentemente aislado a nivel mundial (Gross et al., 2014). En la actualidad, existen numerosos antifúngicos para el tratamiento de las dermatomicosis. La terapia puede ser tópica, sistémica o una combinación de ambas dependiendo de la localización, extensión, severidad de las lesiones y la especie de dermatofito involucrada en la infección. Los antifúngicos de acción tópica se aplican localmente en la lesión y pueden presentarse en forma de

geles, cremas, soluciones, polvos, lacas de uñas o ungüentos. El éxito de la terapia tópica depende de factores relacionados con el agente causal y también con las propiedades físico-químicas del antifúngico (Vasallo, 2013).

Tradicionalmente, se han empleado las plantas medicinales en la terapéutica de las afecciones, por las ventajas que ofrecen de tener fácil acceso y pocos efectos indeseables. El ajo es una planta que es fuente de numerosas vitaminas (A, B1 y C) y minerales (selenio), que actúan estimulando la inmunidad y contiene el metabolito alicina que posee particularmente propiedades antifúngicas, por lo que se ha sugerido su uso en el tratamiento de las micosis (Vasallo, 2013).

La caléndula (*Calendula officinalis*) tiene múltiples propiedades terapéuticas demostradas, dentro de las que se encuentra su capacidad para mejorar procesos de cicatrización, se cree que la caléndula promueve la producción de glicoproteína, nucleoproteína y el metabolismo del colágeno en las heridas. Además, se ha visto que la granulación se ve acelerada a la hora de la aplicación de la caléndula en forma tópica en las heridas, lo que favorece su cicatrización y sanación (García et al., 2010). También se le atribuyen propiedades analgésica, antihelmíntica, antiséptica, astringente, bactericida, carminativa, colagoga, depurativa, diaforética, diurética, emenagoga, estimulante, espasmolítico, estomáquica, expectorante, febrífuga, laxante, sudorífica, tónica y vulneraria (Cáceres, 1999). La caléndula contiene un alto contenido de carotenoides tales como flavoxantinas, luteína, beta caroteno y licopeno. Se ha encontrado que este último tiene propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiproliferativas (Efstratiou et al., 2012). Dado lo anterior, se elige la caléndula para incorporarla en la formulación como un agente sinérgico para la acción terapéutica antimicrobiana que se evalúa y por tener otros efectos benéficos relacionados con su poder cicatrizante.

2 Metodología

2.1 Obtención del material vegetal

Con base en evidencias de la literatura previa y usos tradicionales en la región, para la elaboración de los preparados magistrales se seleccionaron los bulbos del ajo y las flores de la caléndula. El material vegetal fue obtenido en un mercado local de la ciudad de Medellín, (Antioquia-Colombia) y se identificó de acuerdo con fichas técnicas realizadas por los biólogos del proyecto.

2.2 Extracción

Los bulbos de ajo frescos fueron lavados con agua potable, se les retiró la túnica de protección con un cuchillo de acero inoxidable, la porción carnosa restante se lavó con agua destilada. Se ajustaron

De otro lado, teniendo en cuenta que la bioprospección es una práctica que, si bien puede considerarse antigua, durante los últimos veinte años ha adquirido un margen de actualidad debido a los avances tecnológicos que se han dado en farmacéutica, biotecnología y agricultura. La bioprospección es entendida como la búsqueda sistemática, clasificación e investigación de nuevas fuentes de compuestos químicos, genes, proteínas y otros productos que poseen un valor económico actual o potencial, y que se encuentran en los componentes de la diversidad biológica (Duarte, 2011).

Puede entenderse entonces que el presente estudio es una aplicación de prácticas bioprospectivas, mediante las cuales se plantea la elaboración de un preparado magistral a base de extracto de ajo y de caléndula para evaluar su actividad antimicrobiana, principalmente contra *T. rubrum* y las bacterias *P. aeruginosa* y *S. aureus*, mediante la aplicación de procedimientos operativos que detallan la obtención de los extractos, los controles de calidad efectuados y la formulación del preparado magistral.

hasta pesar 25 gramos de bulbos de ajo que luego fueron llevados a una licuadora de cocina Oster. El licuado así obtenido se depositó en un Erlenmeyer, luego se adicionaron 50ml de etanol al 75% y se agitó en frío durante 2 horas. Se almacenó en nevera entre 2 a 8 grados Celsius por 24 horas, luego se filtró con una gasa en papel filtro (Durán et al., 2007). Los extractos fueron almacenados en nevera para su posterior uso.

Las flores de caléndula se adquirieron secas, se pesaron 200g, se llevaron a Beaker de 500ml y se adicionaron 200ml de etanol al 96%, se dejó 15 días en maceración y oscuridad, se filtró con gasa, y se dejó secar a 40 grados Celsius en estufa hasta sequedad.

2.3 Elaboración del preparado magistral

2.3.1 Formulación base

Se definió la fórmula base, de acuerdo con experimentación previa del grupo de investigación. Ver rangos de adición tabla 1.

2.3.2 Adición de extractos

Se prepararon diferentes formulaciones en las cuales se adicionaron extractos de ajo al 10%, 20%, 30% y 40%. El extracto de caléndula se adicionó a todas las formulaciones, a una misma concentración de 20%.

2.3.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana

Se empleó el método de poder bactericida para medir la capacidad antimicrobiana de la crema con extractos de ajo y caléndula. Según norma NTC 5150:2003 y NTC 5540:2007, se probó contra los siguientes microorganismos: *Pseudomonas aeruginosa* cepa ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* cepa ATCC 6538 y contra el hongo dermatofito *Trichophyton rubrum* cepa ATCC 28188. Esta prueba evidenció porcentajes de reducción de los microorganismos retados, en tiempos de contacto de 5 minutos para las bacterias y 15 minutos para el hongo.

3 Resultados y discusión

En la tabla 1, se muestran los componentes de la formulación con sus diferentes rangos de aplicación, que en suma, expresa las especificaciones finales de la fórmula magistral, la cual se usó como base para todas las réplicas del experimento, ya que presenta una untuosidad adecuada para una crema tópica. Los resultados obtenidos en cuanto a la percepción

de la crema, de acuerdo con las especificaciones de la forma farmacéutica, fueron aceptables en cuanto a textura, olor y capacidad de absorción, lo que garantiza una variable más, para la adherencia al tratamiento con este producto de origen natural.

Tabla 1. Formulación base del preparado magistral

Ingrediente	% (Rango de adición)
Agua	c.s.p*
Poliacrilato de sodio	2 3
Miristato de isopropilo	3 4
Agentes humectantes	15-16
Conservante	0.1-0.5
Extracto de ajo	10, 20, 30 y 40
Extracto de caléndula	20

*c.s.p: cantidad suficiente para completar 100%.

En la tabla 2, se muestran los resultados del control de calidad realizado al preparado magistral, al cual se le midieron diferentes propiedades organolépticas y parámetros fisicoquímicos, a fin de establecer las especificaciones con las cuales se debe fabricar la crema, de manera que se garantice la homogeneidad en la producción.

Tabla 2. Control de calidad fisicoquímico

Parámetros físico químico y organolépticos	Resultado
Color	Amarillo . .
Olor	Característico
Aspecto	Producto untuoso, homogéneo, libre de partículas extrañas.
Densidad Relativa	0.9 - 0.95 g/ml.
Viscosidad	32000 - 33000 c.p.s* (Aguja #6, 10 r.p.m*, 25°C, factor 1000).
pH	6 - 7
c.p.s*: r.p.m*: revoluciones por minuto	

Se realizó la adición a la formulación base, de diferentes concentraciones de ajo y una sola concentración de caléndula. Cada uno de estos preparados, fue sometido a evaluación antimicrobiana y el factor variable fue el porcentaje de extracto de ajo al 10%, 20%, 30% y 40%. Se evidenció, que la formulación con el porcentaje de extracto de ajo del 40%, presentó la mayor reducción en porcentaje de los microorganismos evaluados.

La crema de ajo 40% y caléndula 20%, se retó contra diferentes cepas de microorganismos y los resultados fueron: *Pseudomona aeruginosa* cepa ATCC 9027 presentó una reducción del 99% del microorganismo a los 5 minutos de contacto con la crema, *Staphylococcus aureus* cepa ATCC 6538 con una reducción del 98.8% del microorganismo a los 5 minutos de contacto con la crema. Este efecto pudo deberse a la sinergia presentada por los extractos de caléndula y ajo, ya que según Efstratiou et al (2012), el extracto etanólico de la caléndula presentó actividad inhibitoria contra las bacterias *Staphylococcus aureus* MSSA 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 27853, con halos de inhibición de 13mm +/-1 y 28mm +/-2. Adicionalmente, extractos, crudo y acuoso, de ajo mostraron un efecto dependiente de la dosis contra *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, el cual presentó un halo de inhibición de 20mm a 100 µg/10 µl (Saha et al, 2015) y extractos de ajo ricos en alicina, presentaron actividad inhibitoria contra *S. aureus* con un diámetro de inhibición de 32.33mm +/- 2.51. El hongo dermatofito *Trichopyton rubrum* cepa ATCC 28188 tuvo una reducción del 99,9% a los 15 minutos de contacto con la crema. En estudios similares, se demostró que los extractos etanólicos de *A. sativum* presentaron actividad inhibitoria contra el hongo *T. rubrum*, mostrando halos de hasta 39mm, siendo el extracto con mayor actividad en comparación con *A. cepa* y *Z. officinale* (Ikegbunam et al., 2016). Estos resultados indican que la crema tiene capacidad antimicrobiana contra dichos microorganismos.

Tabla 3. Poder bactericida y fungicida de la crema antimicrobiana con extractos de ajo y caléndula

Microorganismo	Tiempo de contacto	Resultado (%) de reducción del crecimiento de agente infeccioso
<i>Pseudomona aeruginosa</i> cepa ATCC 9027	5 minutos	99%
<i>Staphylococcus aureus</i> cepa ATCC 6538	5 minutos	98.8%
<i>Trichopyton rubrum</i> cepa ATCC 28188	15 minutos	99,9%

4 Conclusiones y recomendaciones

La formulación magistral a base de extracto de ajo al 40% y caléndula al 20%, presentó actividad antimicrobiana contra las bacterias *S. aureus* y *P. aeruginosa* y el hongo *T. rubrum*. lo que hace evidente que es una alternativa para el tratamiento de dermatomicosis causadas por el *T. rubrum*. e infecciones cutáneas causadas por *P. aeruginosa* y/o *S. aureus*.

En suma los compuestos bioactivos utilizados, evidencian actividad antimicrobiana, antimicótica y cicatrizante dentro del preparado magistral. Los procedimientos operativos estándar para la obtención de los extractos y para la elaboración de la crema, se desarrollaron de tal manera que su elaboración puede ser reproducible, con los efectos esperados.

Para materializar el objetivo de esta investigación se indica que, para generar prácticas bioprospectivas y fomentar el biocomercio, en pos del aprovechamiento local de la biodiversidad de Colombia, se recomienda realizar alianzas entre la industria farmacéutica nacional para producir este preparado magistral a escala industrial, además de motivar a los diversos grupos de investigación colombianos para que continúen en aumento los acervos de soportes científicos que permitan engrosar la lista de las finalidades terapéuticas de tales recursos, con el objetivo de explorar la potencialidad de las llamadas sustancias bioactivas

y la opción de encontrar en ellas, la solución a importantes problemas de salud, que permitan participar efectivamente al sector agroindustrial nacional como potenciales proveedores dentro de la tendencia del biocomercio.



**Esquema del proceso de elaboración del preparado mágico-
tral imágenes tomadas de <https://pixabay.com>**

Referencias

Cáceres, A.R. (1999). Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria.

Duarte, O. (2011). La bioprospección en Colombia. *Expedito*, 17-25.

Durán, M., González, P., & Cardona, L. (2007). Obtención y caracterización de la oleoresina del ajo (*Allium sativum*). *Scientia et Technica* año XIII, 37, 551-555.

Efstratioua, E., Hussainb, A., Nigama, P., Moorea, J., Ayubb, M., & Raod, J. (2012). Antimicrobial activity of

Calendula officinalis petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 18(3), 173-176.

García, D., Roa, N., Mahecha, L., Oviedo, V., Chaves, M., Madrid, M., & Moreno, G. (2010). Efecto de la *Calendula officinalis* en la proliferación del fibroblasto gingival humano. *Universitas Odontológica*, Julio-Diciembre, 107-112.

Gross, N., Ureña, M., & Chaves, O. (2014). Sensibilidad al fluconazol de aislamientos de *Trichophyton rubrum*. *Acta Médica Costarricense*, 56(1), 23-26.

Ikegbunam, M., Ukamaka, M., & Emmanuel, O. (2016). Evaluation of the antifungal activity of aqueous and alcoholic extracts of six spices. *American Journal of Plant Sciences*, 7, 118-125.

Saha, S.K., Saha, S., Hossain, M.A., & Paul, S.K. (2015). In vitro assessment of antibacterial effect of garlic (*Allium sativum*) extracts on *Pseudomonas aeruginosa*. *Mymensingh Med J*, 24(2), 222-232.

Vasallo, G., Sardury, L., & Vázquez, X. (2013). Utilización del ajo en el tratamiento de la dermatomicosis en conejos híbridos de Nueva Zelanda blanco. *Revista electrónica de veterinaria*, 14(11B), 1-4.

Imágenes tomadas de <https://pixabay.com>.