

## Composición química y actividad antifúngica del látex de *Argemone mexicana* (Cardo Santo)

Carlos Santiago Curay Yaulema<sup>1</sup>; Wilson Edwin Moncayo Molina<sup>2</sup>;  
Wilmer Patricio Tierra Vilema<sup>3</sup>; Lesslie Jokaasta Pulgar Astudillo<sup>4</sup>; Haydelba T. D Armas R<sup>5</sup>

(Recibido: octubre 06, 2022; Aceptado: marzo 16, 2023)

<https://doi.org/10.29076/issn.2602-8360vol7iss12.2023pp19-36>

### Resumen

Ecuador cuenta con una amplia diversidad de especies vegetales que han sido usadas como medicina tradicional, entre ellas la especie *Argemone mexicana* (Cardo Santo), la cual se encuentra distribuida en varias zonas de la sierra central, el látex es usado en forma tópica, de manera directa y en emplastos, debido a que presenta propiedades antifúngicas. El presente trabajo de investigación se enfoca en la caracterización e identificación de las especies químicas presentes en el látex de dicha especie, para lo cual se obtuvieron dos extractos (acuoso y etanólico). Se realizaron cortes en la planta y mediante jeringuillas esterilizadas, se extrajo el látex para su posterior caracterización por medio de un tamizaje fitoquímico (análisis químico referencial) y la técnica de CG-EM (cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas). Paralelamente, se realizaron pruebas de bioactividad, mediante la técnica de Kirby Bauer, con las cepas de hongos *Botrytis cinerea* y *Cladosporium spp*, y con dos medios de cultivo (agar PDA y Saubourad), donde se logró comprobar la actividad antifúngica del extracto acuoso del látex a concentraciones de 10 µl y 20 µl del extracto, mediante la observación evidente de la formación de halos de inhibición bien definidos. Utilizando los metabolitos secundarios identificados por cromatografía de gases-detector de masas se realizó una comparación de sus estructuras químicas y bioactividad con trabajos similares reportados en la literatura, lo que permitió atribuirle la actividad antifúngica a los compuestos identificados, pudiendo ser responsables de la actividad biológica observada.

**Palabras Clave:** actividad biológica; *Argemone mexicana* (Cardo Santo); cromatografía de gases-espectroscopía de masas; Kirby Bauer; tamizaje fitoquímico.

## Chemical composition and antifungal activity of latex from *Argemone mexicana* (Cardo Santo)

### Abstract

Ecuador has a wide diversity of plant species that have been used as traditional medicine, including the *Argemone mexicana* specie (Cardo Santo), which is distributed in various areas of the central highlands, latex is used topically, directly and in plasters, because it has antifungal properties. The present research work focuses on the characterization and identification of the chemical species present in the latex of said species, for which two extracts (aqueous and ethanolic) were obtained. Cuts were made in the plant and the latex was extracted using sterilized syringes for its subsequent characterization by means of a phytochemical screening (referential chemical analysis) and GC-MS technique (gas chromatography coupled to mass spectrometry). At the same time, bioactivity tests were carried out, using the Kirby Bauer technique, in the strains of fungi *Botrytis cinerea* and *Cladosporium spp*, and with two culture media (PDA and Saubourad agar), where it was possible to verify the antifungal activity of the aqueous extract of the latex at concentrations of 10 µl and 20 µl of the extract, through the evident observation of the formation of well-defined inhibition halos. Using the secondary metabolites identified by gas chromatography-mass detector, a comparison of their chemical structures and bioactivity with similar works reported in the literature was made, which allowed attributing the antifungal activity to the identified compounds that could be responsible for the observed biological activity.

**Keywords:** biological activity; *Argemone mexicana* (Cardo Santo); gas chromatography-mass spectroscopy; Kirby Bauer; phytochemical screening.

<sup>1</sup> Analista de Laboratorio Químico. Gerente de Laboratorio Químicos y reactivos de aseo y limpieza (QUIRAL). Ecuador. Email: carlosscuray@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-0946-5298>

<sup>2</sup> Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera de Laboratorio Clínico. Email: wmoncayo@unach.edu.ec. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2584-1861>

<sup>3</sup> Analista de Laboratorio Clínico e Histopatológico. Gerente de Laboratorio SIMOFAYT CIA.LTDA. Ecuador. Email: wilpatrik\_22@hotmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-6351-0565>

<sup>4</sup> Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador. Email: lessliejokaasta@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2944-484X>

<sup>5</sup> Universidad de Oriente, Escuela de Ciencias, Departamento de Química. Venezuela. Email: hdamasr@gmail.com. ORCID <http://orcid.org/0000-0001-9301-3801>

## INTRODUCCIÓN

Ecuador tiene una superficie de 280.000 km<sup>2</sup> y alberga una gran diversidad vegetal, 18 198 especies de plantas vasculares aproximadamente, esto es debido a los diferentes pisos climáticos con los que el país cuenta, es por ello que las plantas han sido utilizadas desde la antigüedad como un recurso al alcance del ser humano para la alimentación y como alternativa de tratamiento de varias enfermedades en humanos, animales y plantas.

Las plantas medicinales tienen varios usos en el país, que van enfocados desde alimento, medicina alternativa y/o aplicaciones fitopatológicas, esto en la actualidad ha ido en aumento, a pesar de ello, pocas especies de vegetales han sido estudiadas mediante parámetros científicos y teniendo en cuenta normas éticas definidas que sustenten estas aplicaciones.

En los últimos años, se ha observado una tendencia creciente en la investigación sobre los especies vegetales que presenten propiedades antifúngicas, pese a ello, el desconocimiento en la aplicación de alternativas antifúngicas conlleva, en la mayoría de los casos, a aplicaciones inadecuadas de productos antifúngicos, que pueden disminuir la producción y encarecer productos en el caso de que hongos ataquen a especies agrícolas y/o a una inadecuada prescripción médica en caso de que los hongos afecten al ser humano.

Unos de los microorganismos que más incidencia tienen en afecciones a humanos, animales y plantas son los hongos, esto se traduce en costosos métodos de control; por lo tanto, las alternativas de productos antifúngicos deben ser evaluadas correctamente, con el fin de establecer parámetros y entornos reales de una afección y de esta manera optimizar su aplicación. Las pruebas de actividad biológica antifúngica permiten establecer condiciones de aplicación y de esta manera dinamizar la interacción entre especies propias de la región.

El presente trabajo presenta un estudio de la composición química presente en el látex de la planta *Argemone mexicana* (Cardo Santo) y su posible actividad antifúngica, lo que conduce a sugerir el uso de esta especie como una alternativa para tratamientos antifúngicos.

Por medio de la identificación de los compuestos químicos presentes en el látex de la planta, se definen cuáles son los metabolitos secundarios responsables de la bioactividad observada. Mediante la prueba del antibiograma basada en el método Kirby Bauer se determina la actividad antifúngica del extracto del látex de *Argemone mexicana* frente a dos cepas de hongos: *Botrytis cinerea* y *Cladosporium spp.*

## MÉTODOS

El trabajo experimental se desarrolló en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y en el Centro de Investigaciones Biotecnológicas de Ecuador de la Escuela Superior Politécnica del Litoral.

**Identificación de la planta.** La recolección de muestras de la especie vegetal se realizó en la ciudad de Riobamba y la identificación de la planta la realizó el PhD en Biología William Patricio Ponce Yaulema.

**Preparación del material Vegetal.** Una vez localizada e identificada la planta, se procedió a limpiar la zona en donde se realizaron los cortes para la extracción del látex, esta extracción debió ser inmediata, debido a que el látex una vez que entra en contacto con el medio ambiente se torna de un color negro, por lo que se asume que tiene procesos de pardeamiento o reacciones de óxido/reducción.

**Extracción del látex y obtención de los extractos**

**Materiales:** Bisturí estéril N° 3, Jeringuilla de 3mL y 5mL, Frascos ámbar 200 mL.

**Metodología:** Con un bisturí estéril, se procedió a realizar cortes en tallo y partes externas de la planta (hojas y flores), por medio de una jeringuilla se realizó

la extracción del látex, sumergiendo el contenido en agua destilada y en etanol de 96° separadamente, se recogió el material vegetal para posteriormente pesar y tener una relación de la cantidad de planta utilizada para la extracción del látex, obteniéndose así los extractos acuoso y alcohólico para su posterior análisis.

#### **Determinaciones físico-químicas**

**pH.** Se utilizó un pH-metro marca HANNA INSTRUMENTS modelo pH/ORP/ISE·CE y la determinación se realizó de manera directa, según las especificaciones del manual del equipo.

**Índice de refracción.** La determinación del índice de refracción se realizó a temperatura ambiente de  $18 \pm 2^\circ\text{C}$  en un refractómetro KYOTO ELECTRONICS, el equipo se calibró con agua destilada siendo su índice de refracción en 1,3330.

**Densidad.** La densidad del extracto de látex se verificó determinando el peso del picnómetro seco en estufa hasta obtener peso constante, posteriormente es colocado 10 mL de cada extracto obtenido evitando la formación de burbujas en el interior, se procede a pesar y mediante cálculo con la aplicación de la siguiente ecuación se realiza la determinación:

$$\delta = \frac{M_{ext} - M_v}{V}$$

En donde:

$M_{ext}$  = masa del picnómetro más el extracto

$M_v$  = masa del picnómetro vacío

V = volumen del extracto

#### **Determinación en Espectrofotómetro Infrarrojo FT-IR**

Esta determinación se realiza por medio de un equipo Marca JASCO modelo FT/IR-4100 de la siguiente manera:

1. Conectar el equipo y el ordenador a un tomacorriente de 110V.
2. Proporcionar energía al equipo presionando el switch POWER ubicado en la parte posterior derecha.
3. Encender el equipo presionando el switch POWER ubicado en la parte superior derecha del equipo y esperar cinco minutos hasta que los parámetros de análisis estén listos.
4. Para iniciar el barrido encender el ordenador e ir a: Inicio/Todos los programas/ JASCO/ SpectraManager.
5. Iniciar el programa SpectraManager y seleccionar Quick-Start.
6. Limpiar con algodón y alcohol el área de muestra (Cristal de seleniuro de zinc, soporte y capuchón de tornillo) ubicada en la parte interior central del equipo.
7. Realizar el background al verificar la ausencia de sustancia en el área de muestra, cerrar la tapa del equipo y presionar el botón "START" ubicado en la parte frontal.
8. Realizar el barrido espectral colocando la muestra líquida (2 gotas) o sólida (polvo) sobre el cristal del área de muestra, quitar el seguro ubicado en la parte posterior, jalar hacia adelante el tornillo de ajuste, ajustarlo hasta que muestre fricción, cerrar la tapa y pulsar "START».
9. Procesar el espectro utilizando el programa Spectra Analysis, corregir las escalas seleccionando el icono corregir la línea base seleccionando (ubicar la línea azul cercana a los puntos altos de los picos y seleccionar OK) y eliminar el CO2 seleccionando el icono (intervalos automáticos, presionar OK)
10. Identificar los picos más relevantes seleccionando el icono. Etiquetar los picos automáticamente asignando límites de lectura y presionar Apply o manualmente moviendo la línea vertical azul y dar click en Add. Eliminar los picos menos relevantes, seleccionando el número de onda de la parte izquierda y la opción Delete y seleccionar OK.
11. Generar las líneas auxiliares seleccionando habilitar todas y pulsar OK.
12. Guardar el archivo seleccionando: File

/ Save As. Y guardar el espectro como una imagen, seleccionando Edit/ Copy as/ Bitmap y pegar en un procesador de texto.

13. Desajustar el tortillo de ajuste y repetir el paso 6.
14. Repetir los pasos 8, 9, 10, 11, 12 y 13 con todas las muestras.

### **Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM)**

La determinación se realizó en el Laboratorio de la CIBE, ESPOL, en un equipo Agilent Modelo 7890A GC System -5975C inert MSD With Triple Axis-Detector, con dimensiones HP -1 (19091Z-115) (50 m length x 0,320 mm Diam x 0,52 µm Film), el gas utilizado fue Helio. Los compuestos fueron identificados por comparación de los espectros existentes en la Biblioteca Digital de Espectros de Masas Wiley 9th Edition con 790 mil espectros + Biblioteca NIST 2011 con 243 mil espectros con nombres y estructuras químicas.

#### *Condiciones de trabajo.*

- Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas
- Marca: Agilent Technologies
- Columna: DB-5MS (30 m longitud x 0.25 mm Diámetro interno) y 0.25 micrómetros de espesor de película.
- Gas de arrastre: Helio (He), Flujo: 1.2 ml/min
- Temperatura de inyección: 250°C
- Modo de inyección: Splitless
- Temperatura inicial del horno: 70°C por 2 minutos
- Gradiente del horno: 5°C/min
- Temperatura final del horno: 300 °C por 6 minutos
- Temperatura de transferencia: 300°C
- Temperatura de la fuente de iones: 230°C
- Temperatura del cuadrupolo: 150°C
- Voltaje de electroionización: 70 eV
- Rango de screening: 50-550 u.m.a.

### *Derivatización*

- Agente derivatizante: N, O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA), Sigma-aldrich.
- Reacción de derivatización: 100 uL del agente derivatizante se agregaron en 1 mg de muestra seca y se colocaron en baño de agua a 80°C por 2 horas.

### **Tamizaje Fitoquímico**

Para la evaluación de la presencia de los tipos de familias de compuestos químicos o metabolitos secundarios, se realizaron varias pruebas químicas cualitativas a los extractos elaborados del látex de la especie vegetal *A. mexicana*.

#### *Materiales*

- Gradilla.
- Tubos de ensayo.
- Pipetas 10 ml
- Pipetas 1 ml.
- Papel filtro.
- Reverbero.
- Extracto acuoso del látex *A. mexicana*.
- Extracto etanólico del látex *A. mexicana*.

Tabla 1. Pruebas químicas realizadas al extracto etanólico del látex de *A. mexicana*.

Ensayo	Metabolito secundario
Ensayo de Catequinas	Catequinas
Ensayo de Sudan	Compuestos grasos
Ensayo de Resinas	Resinas
Ensayo de Fehling	Azúcares reductores
Ensayo de Baljet	Lactonas
Ensayo de Libermann-Buchard	Triterpenos-Esteroides
Ensayo de Cl <sub>3</sub> Fe	Fenoles y Taninos
Ensayo de Espuma	Saponinas
Ensayo de Ninhidrina	Aminoácidos
Ensayo de Bontrager	Quinonas
Ensayo de Shinoda	Flavonoides
Ensayo de Antocianidina	Antocianinos
Ensayo de Dragendorff	Alcaloides
Ensayo de Mayer	Alcaloides
Ensayo de Wagner	Alcaloides

Tabla 2. Pruebas químicas realizadas al extracto acuoso del látex de *A. mexicana*.

Ensayo	Metabolito secundario
Ensayo de Fehling	Azúcares reductores
Ensayo de Sudan	Compuestos grasos
Ensayo de Cl <sub>3</sub> Fe	Fenoles y Taninos
Ensayo de Espuma	Saponinas
Ensayo de Shinoda	Flavonoides
Ensayo de Dragendorff	Alcaloides
Ensayo de Mayer	Alcaloides
Ensayo de Wagner	Alcaloides
Ensayo de Mucílagos	Mucílagos
Ensayo de Principios	Principios amargos
Ensayo de Shinoda	Flavonoides

#### Descripción de las pruebas químicas

**Ensayo de Sudan.** Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, a la alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añadió 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente (1).

La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayo respectivamente (1).

**Ensayo de Dragendorff.** Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++) (1).

**Ensayo de Mayer.** Se procedió de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Se añadió una pizca de cloruro de sodio en polvo, agitar y filtrar. Añadir 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se

observa opalescencia (+), Turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++) (1).

**Ensayo de Wagner.** Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma (1).

**Ensayo de Baljet.** Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo (1). Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1mL del reactivo; considerándose un ensayo positivo, la aparición de coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente (1).

**Ensayo de Borntrager.** Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo re disolverse en 1 mL de cloroformo. Añadir 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5 % en agua. Agitar mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++) (1).

**Ensayo de Liebermann-Burchard.** Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6 (1).

Para tal fin, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo re-disolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se



tiene por un cambio rápido de coloración:

- Rosado-azul muy rápido.
- Verde intenso-visible, aunque rápido.
- Verde oscuro-negro-final de la reacción (1).

**Ensayo de catequinas.** Para realizarlo, se tomó de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplicar la solución sobre papel de filtro. Sobre la mancha se aplicó una solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo (1).

**Ensayo de resinas.** Para detectar este tipo de compuesto, adicionar 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo (1).

**Ensayo de Fehling.** Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo se disuelve en 1-2 mL de agua. Se adiciona 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo (1).

**Ensayo de la espuma.** Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que, si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos (1).

**Ensayo del cloruro férrico.** Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina

fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se le añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos (1).

**Ensayo de Shinoda.** Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen (1).

Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos (1).

**Ensayo de antocianidinas.** Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calentaron 2 mL del extracto etanólico por 10 min con 1 mL de HCl concentrado. Se dejó enfriar y se adicionó 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agitó y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amilíca, es indicativa de un ensayo positivo (1).

**Ensayo de mucílagos.** Permite reconocer en los extractos de vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. Para esta determinación se tomó una

alícuota del extracto en agua se enfría a 0-5 °C y si la solución se torna de una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo (1).

**Ensayo de principios amargos y astringentes.** El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios, bien diferenciados al paladar (1).

### Actividad Biológica

En el presente trabajo se utilizaron dos cepas diferentes de hongos: *Botrytis cinerea* y *Cladosporium spp.* Se trabajó con dos medios de cultivo Agar PDA (potato dextrose agar marca comercial MERCK) y Sabouraud (marca comercial BECTON). Las cepas fueron previamente aisladas y colocadas en agar Sabouraud los cuales servirán como fuente directa para el sembrado de las cajas de control (sin ningún tipo de prueba biológica) y las cajas de prueba de actividad biológica.

### Preparación del agar.

Se lavó correctamente todos los materiales de vidrio y se prepararon los medios de cultivo a utilizar, se utilizó 5 cajas Petri con agar PDA y otras 5 con agar Sabouraud. La información para la preparación del medio de cultivo se encuentra en la etiqueta de los frascos contenedores. Una vez que estén listos los medios de cultivo y el material a utilizar para la siembra se procedió a esterilizar mediante una autoclave TUTTNAUER 2340, durante 20 min a un temperatura de 120 °C, 30 min y una presión de 15 psi.

### Método de siembra.

Una vez esterilizado el material y los medios de cultivo, en una cámara de flujo laminar, se colocaron de 20 a 25 ml de agar PDA y agar Sabouraud en las cajas Petri, se deja reposar hasta que el medio de cultivo se solidifique con la caja superior abierta para evitar condensación de vapor. En la caja que contiene la primera especie de hongo *Botrytis cinerea* por medio de un hisopo que contiene el hongo, se realizó un estriado, posterior

se procedió de forma uniforme en las cajas petri que contienen el Agar PDA y Sabouraud cubriendo homogéneamente toda la caja. Este método se aplicó para ambas cepas de hongos.

### Método Kirby – Bauer.

Una vez realizada la inoculación de cada cepa de hongo, en el medio de cultivo se procede a colocar 3 discos de papel filtro cualitativo Whatman®, en los cuales se colocaron 10 µL y 20 µL del extracto de concentración 0,039 g/mL; estos discos se deben colocar con cuidado, procurando que la superficie del disco se encuentre asentado completamente en el medio de cultivo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Extracción del látex

Para la obtención del extracto acuoso del látex se utilizó material vegetal fresco, se empleó doce partes del tallo y hojas con una masa de 22,8771 g y se extrajo un total de 1,197 g de látex; con este valor se procedió a dar un estimado de porcentaje de rendimiento para la obtención del extracto acuoso. La cantidad de látex contenida en la especie vegetal es limitada, una vez realizado un corte en una parte de la planta, como no segrega el látex permanentemente, se realizó un nuevo corte a otra sección de la planta para la obtención de látex.

Tabla 3. Masa de material vegetal fresco usado para la extracción del látex-extracto acuoso.

N° de muestra	Material vegetal fresco (g)	Cantidad de látex extraído para el extracto acuoso (g)
1	1,3568	0,071
2	3,3655	0,176
3	1,6647	0,087
4	0,9507	0,050
5	1,7550	0,092
6	4,9788	0,261
7	0,5492	0,029
8	1,4630	0,077
9	1,0107	0,053
10	3,8176	0,200

11	0,9623	0,050
12	1,0028	0,052
	22,8771	1,197 g
Masa total del material vegetal fresco (g)		24,0741

Para obtener la masa total del material fresco utilizado para la obtención del extracto acuoso, se sumó la masa del material fresco más la masa del látex extraído, esto dio un total de 24,0741g. Para tener un estimado de rendimiento se realizó una relación entre el material fresco utilizado y el látex obtenido, utilizando la siguiente relación (2):

$$\% R = \frac{W_f - W_i}{W_i} * 100$$

En donde %R hace referencia al porcentaje de rendimiento,  $W_i$  es la masa inicial del material vegetal fresco y  $W_f$  es la masa del material fresco extraído el látex.

El porcentaje de rendimiento de la extracción del látex de la especie vegetal es de 4,97 %, cabe recalcar que el rendimiento es referencial, debido a que el látex extraído es resultado de las partes de la planta que fueron separadas y de la parte que se encuentra plantada.

Tabla 4. Masa de material vegetal fresco usado para la extracción del látex-extracto etanólico

Nº de muestra	Material vegetal fresco (g)	Cantidad de látex extraído para el extracto etanólico (g)
1	1,5871	0,080
2	2,3568	0,119
3	0,9854	0,050
4	3,1458	0,150
5	0,8754	0,044
6	2,8547	0,144
7	3,7412	0,189
8	2,2145	0,112
9	0,8421	0,042
10	0,8547	0,043
11	1,1549	0,058
12	1,0475	0,053
	21,6601	1,084
Masa total del material fresco (g)		22,7441

Para obtener el extracto etanólico se utilizó 22,7441 g de doce partes aéreas de la planta (tallo y hojas), de donde se obtuvieron 1,084 g de látex; la masa total del material fresco extraído resulta de la suma del material fresco más la masa del látex extraído. Con estos valores se obtuvo un rendimiento de extracción de látex para la obtención del extracto etanólico.

Para poder obtener un porcentaje de rendimiento se aplicó la relación entre la masa material fresco y la masa del material vegetal, luego de extraer el látex y utilizar la siguiente relación (2)

$$\% R = \frac{W_f - W_i}{W_i} * 100$$

En donde %R hace referencia al porcentaje de rendimiento,  $W_i$  es la masa inicial del material vegetal fresco y  $W_f$  es la masa del material fresco extraído el látex.

Una vez aplicada esta relación se obtiene un rendimiento de 4,76%, este rendimiento es referencial, debido a que no se tiene la masa de la especie vegetal plantada.

### Concentración de los Extractos

De acuerdo a la cantidad de látex extraído se puede estimar la concentración de los extractos que se detalla a continuación:

Tabla 5. Látex vs solvente utilizado

Tipo de Extracto	Masa de látex (g)	Masa del solvente (g)	Volumen de solvente (ml)	Concentración estimada (g/ml)
Acuoso	1.197	29,84	30	0,039
Etanólico	1,084	29,78	30	0,036

La concentración estimada de los extractos se obtiene de la relación entre la masa de látex extraído frente a la masa del solvente utilizado; se procuró mantener valores similares de concentración para las diferentes determinaciones que se realizaron en el estudio.

### Pruebas Físico – Químicas y organolépticas

Como primer análisis se tiene la determinación



de las pruebas organolépticas, las que brindan una información de las características de los extractos acuoso y etanólico, como el color, el olor y el sabor.

Tabla 6. Análisis organoléptico de los extractos del látex de *A. mexicana*.

Parámetros	Descripción	
	Extracto acuoso	Extracto etanólico
Color	Oscuro	Amarillo Claro
Olor	Resinoso	Resinoso
Sabor	Amargo	Amargo Astringente

En los análisis organolépticos se evidencia una diferencia marcada en lo que respecta al color de los extractos, esto se debe a que una vez que el látex entra en contacto con el medio ambiente se torna de color oscuro, lo cual puede ser debido al contacto del látex con el oxígeno, debido a que éste podría estar inmerso de reacciones de oxidación o pardeamiento, no ocurriendo así en el extracto etanólico que mantiene el color propio del látex extraído.

Tabla 7. Análisis físicos de los extractos del látex de *A. mexicana*.

Parámetro	Resultado		
	Blanco (agua destilada)	Extracto alcohólico	Extracto Acuoso
pH	7.03	6.32	6.55
Índice de refracción	1.33299	1.36241	1.33322
Densidad relativa (g/ml)	1.001	0.987	0.991

Para la determinación de los análisis físicos de los extractos, se utilizó como blanco agua destilada. Los valores de pH se encuentran en una escala neutra, esta valoración está estrechamente relacionada con la actividad biológica que pueden presentar los extractos, ya que un pH no adecuado podría estar interactuando e influenciando en los resultados de la actividad antifúngica. El índice de refracción da una referencia de los carbohidratos presentes en la composición química del látex; se puede observar que en

el índice de refracción del extracto etanólico el valor es alto en comparación con el extracto acuoso y es debido a que el alcohol etílico interfiere en el valor de esta medición; en datos teóricos se reporta un índice de refracción del alcohol etílico de 1,36. Los valores de la densidad relativa no varían significativamente en relación con el blanco que se utilizó para esta determinación.

### Análisis y Perfil Fitoquímico

En la Tabla 8 se presentan los resultados obtenidos en las pruebas realizadas a los extractos obtenidos.

Tabla 8. Familias de metabolitos secundarios detectados en el látex de *A. mexicana* mediante el tamizaje fitoquímico.

Ensayo	Grupos de compuestos	Extracto etanólico	Extracto acuoso
Sudan	Compuestos grasos	+++	+++
Catequinas	Catequinas	+	-
Resinas	Resinas	-	-
Fehling	Azúcares reductores	+++	+++
Baljet	Lactonas	++	-
Ensayo de Libermann-Buchard	Triterpenos-Esteroides	+	-
Ensayo de Cl <sub>3</sub> Fe	Fenoles y Taninos	++	+++
Ensayo de Espuma	Saponinas	-	+
Ensayo de Bontrager	Quinonas	-	-
Ensayo de Shinoda	Flavonoides	-	++
Ensayo de Antocianidina	Antocianinas	-	-
Ensayo de Dragendorff	Alcaloides	+++	+++
Ensayo de Mayer	Alcaloides	++	++
Ensayo de Wagner	Alcaloides	++	+++
Ensayo de Mucílagos	Mucílagos	+	+
Ensayo de Principios amargos	Sustancias amargas	+++	+++

+ indica la posible presencia de metabolitos secundarios.  
- indica la posible ausencia de metabolitos secundarios.

Los resultados obtenidos en las pruebas de tamizaje fitoquímico, evidencian un alto contenido o posible presencia de compuestos grasos, azúcares reductores, compuestos fenólicos o taninos, alcaloides y compuestos amargos en ambos extractos (acuoso y etanólico). La presencia de alcaloides es muy común en la familia de las papaveráceas; se puede evidenciar resultados positivos para flavonoides, taninos, fenoles aminoácidos y carbohidratos. En estudios previos realizados se comprobó que el extracto etanólico de las flores de *A. mexicana* contienen alcaloides, flavonoides y compuestos fenólicos, y en el extracto acuoso no se evidenció ninguno de los metabolitos encontrados en el extracto etanólico (3). Los resultados evidencian que los alcaloides predominan en el látex de la especie investigada (*Argemone mexicana*), seguido de los fenoles y taninos, y los triterpenos y esteroides en menor proporción. Los estudios fitoquímicos realizados en investigaciones anteriores de distintas partes de la planta *A. mexicana* reportan la presencia de alcaloides como berberina, protopina, bencilisoquinolina y benzofenantridina, además de cuatro alcaloides bencilisoquinolinicos tales como dehidrocoridalmina, jatrorrhizina,

columbamina, y oxiberberina, que se han aislado de la planta entera (*Quaternary Alkaloids of Argemone Mexicana\_ Enhanced Reader.Pdf*, n.d.). El alcaloide berberina ha mostrado actividad contra las infecciones por hongos especialmente en *Candida albicans* (4); se puede evidenciar una diferencia significativa entre el extracto acuoso y etanólico en la determinación de Baljet (compuestos con agrupamiento lactónico) dando una evidencia de posible presencia en el extracto etanólico y ausencia en el extracto acuoso, esto puede deberse a que ciertos compuestos presentan una cierta solubilidad y pueden extraerse de mejor manera frente a un solvente específico, en este caso etanol.

### Espectro Infrarrojo (IR)

La espectroscopia infrarroja permite identificar grupos funcionales, en muestras sólidas, líquidas y gaseosas, la información se efectúa por medio del gráfico de un espectro, en donde se puede observar la absorbancia de luz infrarroja en el eje de las ordenadas frente longitud de onda en el eje de las abscisas. En la Figura 1 se pueden detectar los picos característicos de los grupos funcionales presentes en la muestra de látex estudiada.

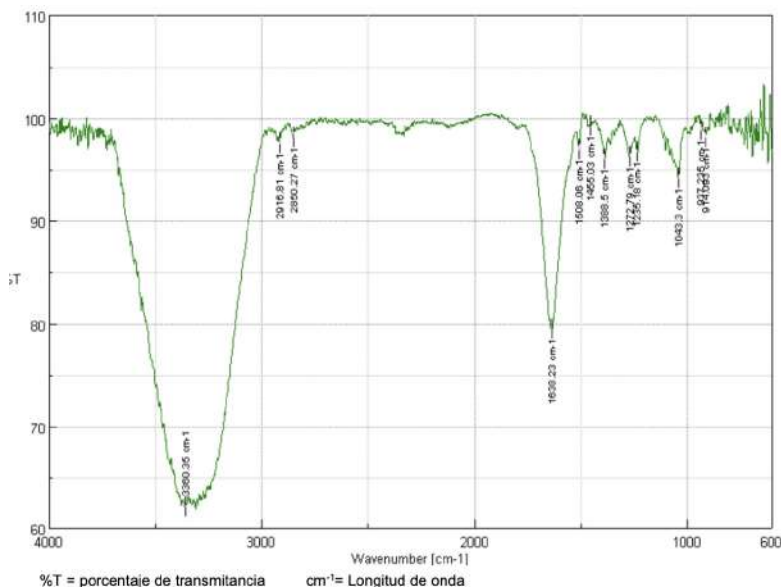


Figura 1. Espectro infrarrojo del látex de *A. mexicana*

El análisis espectroscópico de IR no brinda una información clara y específica en lo que respecta a la composición química del látex; sin embargo, en el espectro se evidencia la banda típica del agua o estiramiento O-H, sin demostrar una diferencia significativa y presencia de otros compuestos que pueden presentar picos característicos para su identificación.

La señal que se presenta en una longitud de onda  $3330\text{ cm}^{-1}$  es una banda con un número de onda elevado, además es una señal ancha y bien definida por lo que se puede interpretar como una característica del grupo -OH, los que se suelen presentarse en un rango de  $3000\text{ cm}^{-1}$  a  $3500\text{ cm}^{-1}$ , y debido a esta característica se podría descartar que esta señal corresponde a grupos -NH típicos de los alcaloides. Esto es debido a que los estiramientos N-H pueden estar superpuestos o enmascarados con la amplia banda de tensión O-H; además, no se aprecian dos señales, una que indique el estiramiento simétrico y otra de un estiramiento asimétrico para N-H si hay presencia de una amina secundaria. Estas observaciones sustentan la información obtenida en las pruebas de tamizaje fitoquímico, donde se detectó la presencia de flavonoides y estos compuestos poseen en su estructura grupos -OH; más la posible presencia de compuestos alcaloidales.

Por otro lado, en el espectro a una longitud de onda entre  $1600\text{ cm}^{-1}$  y  $1700\text{ cm}^{-1}$  se presentan picos característicos de C=O y C=C, en este caso el espectro brinda una información de un pico de  $1638\text{ cm}^{-1}$ , tanto el número de onda como la señal que en este caso es relativamente fuerte y permite inferir que esta vibración es típica de un enlace C=O (carbonilo), grupo funcional presente en aldehídos y cetonas; dichos grupos funcionales pueden estar presentes en carbohidratos, ácidos grasos, entre otros. Los picos que se presentan en rangos inferiores a  $1500\text{ cm}^{-1}$  corresponden a vibraciones de flexión, y debido a que éstas en la mayoría de los casos se superponen, generan una mayor

dificultad en la interpretación del espectro.

Tabla 9. Longitud de onda vs % transmitancia del espectro IR.

Número de onda [ $\text{cm}^{-1}$ ]	%T
3360.35	62.1035
2916.81	97.5725
2850.27	98.0892
1638.23	79.426
1508.06	96.9539
1455.03	99.1753
1388.5	96.0022
1272.79	96.2026
1235.18	96.751
1043.3	94.0992
937.235	98.8322
914.093	98.1007

### Actividad antifúngica

#### Siembra de microorganismos

Para el presente estudio se utilizaron dos cepas de hongos, *Botrytis cinerea* y *Cladosporium spp*, y dos tipos de agar (papa dextrosa o PDA y Sabouraud).



Figura 2. Cepas de *Botrytis cinerea* y *Cladosporium spp* bioensayadas.

La preparación de los medios de cultivo se realizó tomando en cuenta las indicaciones descritas por el fabricante, en este caso para el agar Sabouraud se utilizaron 65,0 g por cada litro de agua, y en el caso del medio PDA se utilizaron 39 g por cada litro de agua.

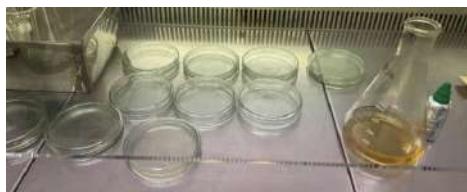


Figura 3. Siembra de microorganismos en agar PDA y Sabouraud.

Se escogieron los medios de cultivo debido a que el medio de cultivo agar Sabouraud provee al hongo de glucosa y peptona, que son fuentes de carbono y de nitrógeno fácilmente utilizables (5); el medio de cultivo PDA representa una fuente directa de almidones, y por otro lado junto con la dextrosa son la base para el crecimiento de hongos y levaduras (6).



Figura 4. Halos de inhibición obtenidos para la actividad antifúngica de los extractos del látex de *A. mexicana*

En la prueba de Kirby Bauer se puede evidenciar claramente la presencia de halos inhibición bien definidos en los dos medios de cultivo utilizados, no siendo así en las cajas Petri que contiene los microorganismos de control, es decir la actividad antifúngica de los extractos es alta.

Para la valoración de la actividad antifúngica se utilizó el extracto acuoso en una sola concentración, pero en diferentes volúmenes de 10  $\mu$ L y 20  $\mu$ L. Se realizó solamente en el extracto acuoso, debido a que el alcohol contenido en el extracto etanólico podría actuar como un potencial inhibidor de crecimiento de los hongos, y esto podría interpretarse como un resultado positivo frente a la valoración antifúngica del látex de la especie vegetal.

En relación a los resultados obtenidos para esta actividad biológica (Tabla 10), se puede indicar que las pruebas realizadas presentan marcados y definidos halos de inhibición para las dos cepas de hongos y en los dos medios de cultivo ensayados.

Tabla 10. Actividad antifúngica del látex de *Argemone mexicana*

Medio de cultivo	Cepas de hongos	Microorganismo							
		Radio e Halos de inhibición (mm)							
		Repetición A (20 $\mu$ L)				Repetición B (10 $\mu$ L)			
		1	2	3	$\bar{x}$	1	2	3	$\bar{x}$
PDA	<i>Cladosporium spp</i>	11,2	10,6	10,9	10,9	6,7	6,3	6,4	6,5
	<i>Botritis cinérea</i>	11,1	9,3	8,7	10,2	9,2	8,7	8,3	8,7
Sabouraud	<i>Cladosporium spp</i>	7,4	7,9	8,3	7,7	5,1	5,4	5,7	5,4
	<i>Botritis cinérea</i>	8,9	9,1	9,3	9,1	9,6	9,4	8,3	9,1

Además, existe una diferencia significativa en las pruebas realizadas, al calcular un promedio de los halos de inhibición en la prueba de 20  $\mu$ L, el hongo *Cladosporium spp* en el agar PDA exhibe un halo de inhibición de 10,9 mm, mientras que el halo en el agar Sabouraud fue de 7,7 mm, es decir en este último agar el hongo tiene una mejor resistencia a la actividad del extracto. El hongo *Botritis cinérea*, en el medio de cultivo PDA, muestra un halo de inhibición de 10,2 mm mientras que en el medio de cultivo

Sabouraud, tiene un valor de 9,1 mm, este hecho puede indicar que el hongo tiene una mayor resistencia en este medio de cultivo frente a la actividad antifúngica del látex. Por otro lado, si se analizan las pruebas del volumen de 10  $\mu$ L del extracto en el hongo *Cladosporium spp*, se puede obtener un promedio de 6,5 mm para el halo en el agar PDA frente a un valor de 5,4 mm en agar Sabouraud, mientras que el hongo *Botritis cinérea* presenta un halo de inhibición de 8,7 mm en agar PDA frente a 9,1 mm en

agar Sabouraud. Estas diferencias pueden deberse a que el crecimiento e inhibición de los hongos están sujetos al tipo de cepa, a la composición del medio y a la asimilación específica de los nutrientes disponibles en relación con su metabolismo, lo cual conduce a que los microorganismos responden de forma particular frente a una valoración antifúngica (7). Pese a que el agar PDA es el más eficiente para el desarrollo de hongos (8), observamos una mejor actividad antifúngica en el volumen de 20  $\mu$ L de extracto en ambas especies de hongos, mientras tanto en el volumen de 10  $\mu$ L se observa una mejor actividad antifúngica del extracto acuoso del látex en contra del hongo *Botrytis cinérea* en el medio de cultivo Sabouraud.

La concentración mínima inhibitoria CMI, resulta ser la concentración más baja (en  $\mu$ g/ml) de una sustancia que responde a inhibición de crecimiento en una determinada cepa bacteriana, estos resultados suelen interpretarse en escalas S (Sensible), I (Intermedia) o R (Resistente), seguido de la CMI en  $\mu$ g/ml (9). De acuerdo al estudio realizado, se observa que en los volúmenes de 20  $\mu$ L y 10  $\mu$ L del extracto, presenta una

respuesta sensible frente a la actividad antifúngica en los dos medios de cultivo y en las dos cepas de microorganismos utilizados.

### **Cromatografía de gases acoplado a Espectrometría de masas (CG-EM)**

La cromatografía de gases acoplado a un sistema de espectrometría de masas, permite caracterizar de mejor manera los compuestos que están contenidos en la muestra; en este trabajo de investigación se sometió el látex de la especie vegetal en estudio a una separación cromatográfica de los metabolitos secundarios volátiles e identificación por espectrometría de masas, basado en la librería de datos del equipo. A continuación, se presentan los cromatogramas obtenidos para los extractos acuoso y etanólico (Figuras 5 y 6), seguido de la información de los compuestos identificados (Tablas 11 y 12) mediante la técnica CG-EM.

La Figura 5 muestra el cromatograma con la presencia de varios tipos de compuestos químicos identificados en el extracto acuoso; los mismos son detallados a continuación con sus respectivos tiempos de retención y los % de abundancia expresados como porcentajes de área.

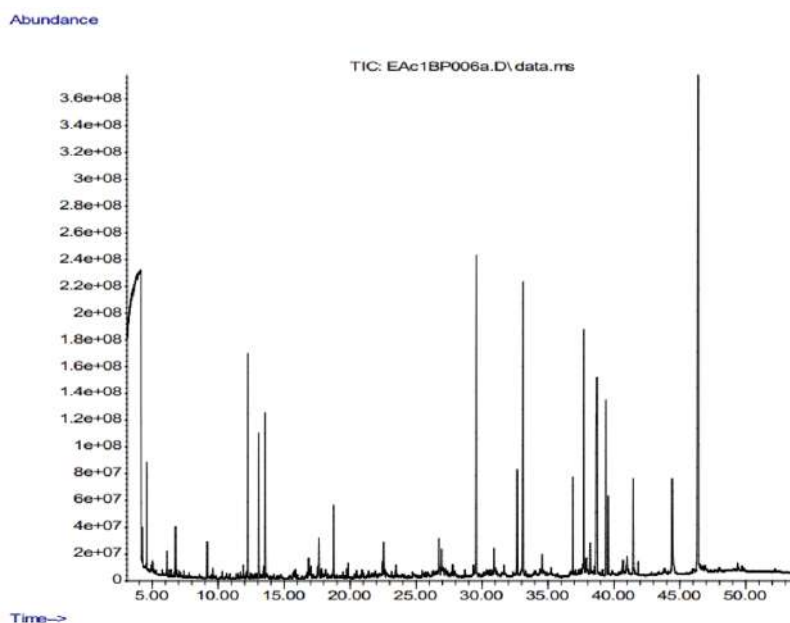


Figura 5. Perfil cromatográfico del extracto acuoso del látex de *A. mexicana*



Tabla 11. Compuestos identificados en el extracto acuoso del látex de *A. mexicana*

Tiempo de retención (min.)	Compuesto	Unidades (% Área ± DE)
7,395	2-Propenoic acid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, TMS ester	0,06 ± 0,00
13,563	(5-Isopropyl-2-methylphenoxy) TMS	1,26 ± 0,28
19,446	L-Threonic acid, tris(trimethylsilyl) ether, TMS	0,09 ± 0,01
19,737	(+) Spathulenol	0,12 ± 0,01
19,852	(-)-Caryophyllene oxide	0,13 ± 0,04
23,491	Hexadecane, 2,6,11,15-tetramethyl	0,16 ± 0,00
26,730	7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-diene-2,8-dione	0,56 ± 0,00
27,245	Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester	0,17 ± 0,00
29,345	Linolenic acid, TMS ester	0,16 ± 0,03
33,110	Octadecanoic acid, TMS ester	4,36 ± 0,06
39,404	Sucrose TMS	2,64 ± 0,15
40,994	2-Monostearin trimethylsilyl ether	0,36 ± 0,03
41,475	Octadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propyl ester	1,22 ± 0,02
41,859	Squalene	0,16 ± 0,01
44,416	Protopine	1,82 ± 0,18

El cromatograma del extracto etanólico (Figura 6) muestra la presencia de varios tipos de componentes químicos identificados en dicho extracto y son detallados a

continuación con sus respectivos tiempos de retención y los % de abundancia expresados como porcentajes de área.

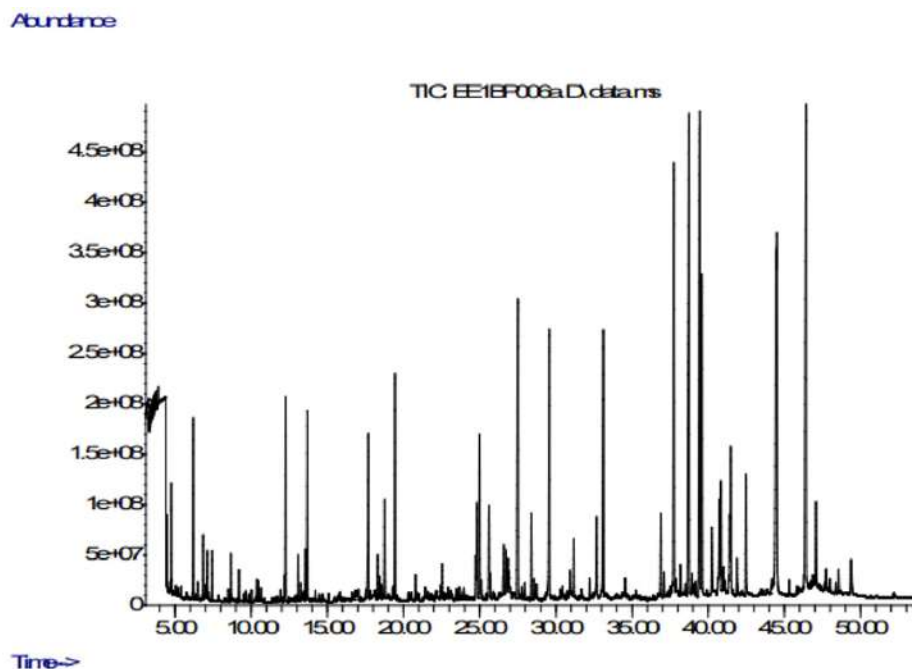


Figura 6. Perfil cromatográfico extracto etanólico del látex de *A. mexicana*.

Tabla 12. Compuestos identificados en el extracto etanólico del látex de *A. mexicana*

Tiempo de retención (min.)	Compuesto	Unidades (% Área ± DE)
6,840	D-lactic acid-di(TMS)	0,33 ± 0,02
8,665	Mono-ethylmalonate, TMS ester	0,33 ± 0,02
10,376	Propanedioic acid, bis (TMS) ester	0,19 ± 0,02
13,260	Succinic acid (2TMS)	0,11 ± 0,02
13,575	(5-Isopropyl-2-methylphenoxy) TMS	0,25 ± 0,08
18,313	L-Proline, 5-oxo-1-(trimethylsilyl)-, TMS ester	0,35 ± 0,02
18,444	L-Aspartic acid, N-(trimethylsilyl)-, bis(TMS) ester	0,23 ± 0,07
19,457	8.beta.-(Methoxyeremophil)-7(11)-en-6.alpha.,15:8.alpha.,12-diolide	1,28 ± 0,30
20,790	Glutamic acid, N-(trimethylsilyl)-, bis(trimethylsilyl) ester, L	0,25 ± 0,09
22,152	2-Methylresorcinol, bis (TMS) ether	0,18 ± 0,03
22,787	α-D-Mannopyranoside, methyl 2,3-bis-O-(TMS)-, cyclic butylboronate	0,05 ± 0,02
24,807	D-(-)-Fructofuranose, pentakis(TMS) ether	0,73 ± 0,02
25,099	Citric acid-tetra(TMS)	0,23 ± 0,08
25,688	D-(+)-Talofuranose, pentakis(TMS) ether (isomer 2)	0,23 ± 0,01
26,575	beta.-D-Allopyranose, pentakis(TMS) ether	0,64 ± 0,02
26,730	7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-diene-2,8-dione	0,46 ± 0,06
26,878	β-D-(+)-Talopyranose, pentakis(TMS) ether	0,32 ± 0,01
28,561	Hexadecanoic acid, ethyl ester	0,14 ± 0,00
30,300	Myo-Inositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-( TMS)	0,15 ± 0,00
31,181	Trimethylsilyl 3,4-bis(trimethylsiloxy)cinnamate	0,43 ± 0,05
32,228	2-Monopalmitoylglycerol trimethylsilyl ether	0,16 ± 0,01
40,737	6-(Hydroxymethyl)-3-(4'-methoxyphenyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	1,07 ± 0,07
40,823	1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	0,82 ± 0,01
41,470	Octadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propyl ester	1,28 ± 0,07
43,546	α-D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5-ethylhexahydro-2,4,6-trioxo-5- pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl 2,3,4-tris-O-(TMS)-, methyl ester	0,05 ± 0,00
44,130	Pregn-5-ene-3,11-dione, 17,20:20,21-bis[methylenebis(oxy)]-, cyclic 3-(1,2- ethanediyl acetal)	0,09 ± 0,00
44,204	Galactinol, nonakis(TMS) ether	0,12 ± 0,02
44,456	Allocriptopine	3,30 ± 0,10
48,370	β-Sitosterol trimethylsilyl ether	0,09 ± 0,00
49,377	Sucrose, octakis(TMS) ether	0,37 ± 0,06

Mediante la CG-EM del extracto acuoso se han podido identificar 15 compuestos químicos, entre los cuales (5-isopropil-2-metilfenoxi) TMS, (-)-óxido de cariofileno, 7,9-di-tert-butil-1-oxaspiro [4.5] deca-6,9-dieno-2,8-diona y escualeno poseen propiedades antifúngicas. En el extracto

etanólico se pudieron identificar 30 compuestos químicos, de los cuales 7,9-di-tert-butil-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-dieno-2,8-diona y alocriptopina presentan propiedades antifúngicas y antibacterianas. Según reportes en la literatura, los alcaloides dehidrocoridalmina y oxiberberina, aislados

de *A. mexicana*, presentaron actividades antifúngicas contra algunas cepas de hongos, entre los cuales figuran *Helminthosporium sp.*, *Curvularia sp.*, *Alternaria cajani*, *Bipolaris sp.* y *Fusarium udum* (10). De igual manera, se pudo comprobar que una mezcla de alcaloides cuaternarios y algunos ácidos fenólicos presentaron propiedades antifúngicas significativas (11) (12).

Uno de los metabolitos secundarios encontrado mayoritariamente mediante CG – EM, es el 2-metil-5-(1-metiletil)-fenol denominado carvacrol, Este compuesto es un fenol monoterpénico, isomérico del timol; investigaciones previas han comprobado que es efectivo como compuesto bioactivo debido a que interviene en la inhibición de la biosíntesis del ergosterol, erradica los biofilms del género *Candida*, ejerce un efecto anticandidiasis en la candidiasis oral y ejerce un efecto anticandidiasis en la candidiasis vaginal (13). Además, se ha demostrado una actividad antifúngica alta por hongos fitopatógenos frente a las cepas de *C. acutatum* y *B. theobromae* (14).

En un estudio realizado acerca de la aplicación de biopolímeros de carvacrol sobre la poscosecha de manzanas, se comprobó que el carvacrol es muy efectivo en el tratamiento y control de *Botrytis cinerea* (15). Sus efectos antifúngicos posiblemente están ejercidos por mecanismos de estrés de Ca<sup>2+</sup> y la inhibición del TOR (vía de la rapamicina), lo cual juega un papel crucial en la viabilidad de todos los hongos; es por ello que, en la industria alimentaria, en ocasiones reemplaza al uso de sorbatos como conservante.

Por otro lado, la protopina es un alcaloide reportado en varias especies de la familia Papaveraceae. Investigaciones realizadas han revelado la bioactividad en el control de larvas de algunos insectos como *Euryasca melanocampa* Meyrick (16). En *A. mexicana* se han encontrado efectos antimicrobianos frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* (17).

El octadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)

oxy]propyl ester, en combinación con otros ácidos grasos han demostrado poseer propiedades antifúngicas útiles para el control de *Candida albicans* y *Candida krusei*, microorganismos presentes en muestras clínicas (18).

En investigaciones previas, se ha observado la presencia de diversos metabolitos secundarios presentes en el organismo vegetal en estudio, muchos de los cuales tienen actividad bactericida y fungicida; la presencia de alcaloides bencilisoquinolínicos como la berberina que cuenta con capacidades antibióticas; protopina, coptisina y sanguinarina con capacidad de inhibir la formación de la placa bacteriana; compuestos como alocriptopina, queleritrina y dihidroqueleritrina que cumplen una acción antibiótica. Por otra parte, los alcaloides dehydrocordalmina y oxiberberina, tienen actividad antifúngica en muchas especies de hongos (19).

Los resultados obtenidos por CG-EM están de acuerdo con los arrojados por las pruebas químicas del tamizaje, debido a que coinciden con la presencia de ciertos grupos de familias de metabolitos secundarios detectados, teniendo en cuenta que el tamizaje fitoquímico es un análisis referencial, es decir, proporciona la posible presencia o ausencia de compuestos y es una referencia de los tipos de metabolitos que pueden estar presente en una determinada especie vegetal.

Los tiempos de retención de los metabolitos presentes en los extractos del látex de la especie vegetal, pueden variar y esto es debido a varios factores como variaciones en las temperaturas del horno, método de inyección de la muestra, cambio de los parámetros en el análisis, estos pueden influir en la determinación; sin embargo, los coeficientes de variación para los tiempos de retención no exceden en el 2%, lo que demuestra que los análisis cromatográficos y los cromatogramas obtenidos poseen una buena confiabilidad y reproducibilidad.

## CONCLUSIONES

La evaluación de la composición química del látex de *Argemone mexicana* (Cardo Santo) se realizó mediante pruebas cualitativas y cuantitativas; además mediante la técnica de CG-EM, comprobándose la presencia de algunos compuestos químicos que pueden ser considerados como responsables de la actividad antifúngica observada.

Las pruebas químicas realizadas al látex de *A. mexicana* evidenciaron la presencia de varias familias de metabolitos secundarios, siendo los alcaloides predominantes, seguido de los fenoles y taninos, y los triterpenos y esteroides en menor proporción.

Mediante el análisis cromatográfico realizado (CG-EM) a los extractos acuoso y etanólico del látex de la planta investigada, se separaron e identificaron 45 metabolitos secundarios, de los cuales 8 poseen actividades antifúngicas, según lo reportado en la literatura.

La actividad antifúngica de los extractos del látex de la especie vegetal *A. mexicana* se pudo evaluar mediante una prueba Kirby Bauer en dos especies de hongos *Botrytis cinerea* y *Cladosporium spp* y en dos medios de cultivo (Sabouraud y PDA), evidenciándose una inhibición de crecimiento muy marcada de dichos microorganismos. La cantidad del extracto aplicada a los medios de cultivo con las cepas de hongos ensayadas, demostraron una actividad antifúngica moderada del látex frente a los microorganismos estudiados.

Los resultados obtenidos indican que el látex de la especie *A. mexicana* (Cardo Santo) constituye una fuente promisoriosa de compuestos bioactivos, especialmente con actividad antifúngica.

## Conflicto de intereses

Los autores deben declarar que no existen conflictos de interés de naturaleza alguna o en su defecto declarar el tipo de conflicto de interés que el autor (o autores) mantenga con la presente investigación.

## REFERENCIAS

1. Miranda M. C, Pérez F, Zuluaga T, Olivera M. D, Correa A, Reyes S. L, Villegas M. V. Resistencia a antimicrobianos de bacilos Gram negativos aislados en unidades de cuidado intensivo en hospitales de Colombia, WHONET 2003, 2004 y 2005. *Biomédica*. 2006; 26(3):424-433.
2. Benítez-Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., Gallo-Corredor, J. A., Pérez Pacheco, N. O., Álvarez Sandoval, J. H., & Giraldo Aristizabal, C. I. Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. 2020; 15(1): 31–40. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3597>
3. Joshi, N., Bhatt, S., Dhyani, D. S., & Nain, J. Phytochemical screening of secondary metabolites of *Argemone mexicana* Linn. *Flowers*. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 2013; 5(2): 144–147.
4. Birdsall, T. C. Berberine: Therapeutic potential of an alkaloid found in several medicinal plants. *Alternative Medicine Review*. 1997; 2(2): 94–103.
5. Servicio Antimicrobianos - INEI – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Metodo de determinacion de sensibilidad antimicrobiana por dilución. MIC testing. 2012; 32(2)
6. Velasco J., Araque M., Araujo E., Longa A., Nieves B., Ramírez A., Sánchez K., Velazco E. Manual práctico de bacteriología clínica. 2009. Editorial Codepre. Universidad de los Andes.
7. Hernández Mansilla A. A, , Rosón Álvarez C. Evaluación preliminar del crecimiento y la esporulación de *Aschersonia aleyrodis* webber en medios de cultivo convencionales. *Fitosanidad*. 2005; 9(3): 61-63.
8. Narrea-Cango, M., & Malpartida-Zevallos, J. Evaluación de medios de cultivos en la producción de conidias y crecimiento diametral de cuatro cepas de hongo

- entomopatógeno *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch. Revista Peruana de Entomología. 2006; 45, 145–147.
9. Cazar Ramírez A., Ruilova-Reyes, A. G. (2007). Determinación de la concentración inhibitoria mínima de aceites esenciales ante bacterias y hongos fitopatógenos. Universidad del Azuay. Trabajo de Grado.
  10. Singh, A., Singh, S., Singh, S., Singh, T. D., Singh, V. P., Pandey, V. B., & Singh, U. P. Fungal spore germination inhibition by alkaloids dehydrocorydalmine and oxyberberine. Journal of Plant Protection Research. 2009; 49(3), 287–289. <https://doi.org/10.2478/v10045-009-0046-9>
  11. Singh, S., Singh, A., Jaiswal, J., Singh, T. D., Singh, V. P., Pandey, V. B., Tiwari, A., & Singh, U. P. Antifungal activity of the mixture of quaternary alkaloids isolated from *Argemone mexicana* against some phytopathogenic fungi. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 2010; 43(8), 769-774. <https://doi.org/10.1080/03235400802176159>
  12. Singh, S., Singh, T. D., Singh, V. P., & Pandey, V. B. Quaternary alkaloids of *Argemone mexicana*. Pharmaceutical Biology. 2010; 48(2), 158–160. <https://doi.org/10.3109/13880200903062622>
  13. Suntres, Z. E., Coccimiglio, J., & Alipour, M. The Bioactivity and Toxicological Actions of Carvacrol. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2015; 55(3), 304–318. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.653458>
  14. Oviedo Berrocal, L. A. (2014). Biotransformación de los sustratos Timol y Carvacrol mediante el hongo fitopatógeno *Colletotrichum acutatum*. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. Trabajo de Grado, p. 111.
  15. Jávaga Tébar A., Sapper M., Martín Esparza E., González Martínez C. Efecto de la aplicación de recubrimientos a base de biopolímeros y carvacrol sobre la calidad poscosecha de manzanas. Universidad Politécnica de Valencia. Trabajo de Grado. 2019.
  16. Alvarado, S. Control biológico de *Eurysacca malanocampta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) con extractos vegetales de *Conium maculatum* L., *Argemone mexicana* L. y *Euphorbia peplus* L. en cultivos de *Chenopodium quinoa* Willd en Ahuac Perú. Universidad Nacional del Centro de Perú. Trabajo de Grado. 2016. p.93.
  17. Ruiz, M. Caracterización fitoquímica y efecto antibacteriano in vitro de *Argemone mexicana* L. contra bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. 2019. Universidad Nacional de Trujillo.
  18. Lobo, Y. Q., Patiño, G. S., & Quirós-Rodríguez, J. A. Characterization of fatty acids and antimicrobial activity of the methanol extract of *Holothuria princeps* (Holothuriida: Holothuriidae). Revista de Biología Tropical. 2021; 69(1), 36–44. <https://doi.org/10.15517/RBT.V69I1.41518>
  19. Quispe Caray, C. R. (2018). Efecto de la implementación de la gestión de logística inversa en los resultados económicos y medioambientales de la empresa industrial Reyemsa Periodo 2017. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Trabajo de Grado. 2018. p. 164.