

### Crema tópica antifúngica elaborada con el extracto hidroalcohólico de la especie endémica *Piper ecuadorensis* Sodiro (matico).

Topical antifungal cream made with the hydroalcoholic extract from the endemic species *Piper ecuadorensis* Sodiro (matico).

Santiago Ojeda-Riascos<sup>1</sup>, Guisella Rivera<sup>1</sup>, Leydy Nathaly Castillo<sup>1</sup>, Chabaco Armijos<sup>1</sup>, Jorge Ramírez<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL), Calle M. Champagnat s/n, 1101608 Loja, Ecuador

\* Correspondence: [jyramirez@utpl.edu.ec](mailto:jyramirez@utpl.edu.ec)



### RESUMEN

El presente estudio describe el proceso de una adaptación tecnológica realizada a nivel de laboratorio para la preparación de una crema tópica con actividad antifúngica usando el extracto alcohólico (70%) de la especie endémica *Piper ecuadorensis* Sodiro (matico). El comportamiento de las formulaciones semisólidas (crema) fueron evaluadas en función de las características organolépticas, fisicoquímicas y la actividad antifúngica in vitro de la crema a tres temperaturas de almacenamiento diferentes: (i) medio ambiente, (ii) 30 °C ± 2 y (iii) 45 °C ± 2, durante un tiempo aproximado de tres meses. Además de ello, otras características como el aspecto, textura, color, densidad, pH y extensibilidad fueron consideradas para determinar la formulación más estable. Referente a la dosificación del extracto etanólico para la inhibición del crecimiento fúngico, la crema elaborada usando 1% del extracto resultó ser la más efectiva al presentar una respuesta positiva frente a dos tipos de dermatofitos a los que fue expuesta, *Trichophyton mentagrophytes* ATCC® 28185 y *Trichophyton rubrum* ATCC® 28188, a una dosificación de 1000 µg/mL y durante un mes de evaluación. Dada la presencia de resultados antifúngicos promisorios, la fórmula desarrollada se encuentra en la posibilidad de ser empleada en estudios posteriores, con la finalidad de evaluar su eficiencia clínica en el tratamiento de infecciones tópicas de la piel.

**Palabras clave:** Crema tópica; extracto hidroalcohólico; *Piper ecuadorensis*; actividad antifúngica.

### ABSTRACT

The present study describes the process of a technological adaptation performed at the laboratory level to prepare a topic cream with antifungal activity using the alcoholic extract (70%) of the endemic *Piper ecuadorensis* Sodiro (Matico) species. During processing, the behavior of semisolid formulations (creams) was evaluated in terms of organoleptic and physicochemical characteristics and in vitro antifungal activity of the cream at three different storage temperature conditions: (i) Environment, (ii) 30 °C ± 2, and (iii) 45 °C ± 2 for three months. Properties such as aspect, texture, density, pH, and extensibility were considered to determine each

cream's stability. According to the dosage of the ethanolic extract to inhibit fungal growth, the cream made using 1% of the extract turned out to be the most effective formulation, so it gave a positive response against the two dermatophytes to which it was exposed, *Trichophyton mentagrophytes* ATCC® 28185 and *Trichophyton rubrum* ATCC® 28188 according to a dosage of 1000 µg/mL during one month of evaluation. Due to promising antifungal results, the developed formula could be used in further studies to evaluate its clinical efficiency in treating topical skin conditions.

**Keywords:** Topic cream; hydroalcoholic extract; *Piper ecuadorensis*; antifungal activity.

## INTRODUCCIÓN

El género *Piper* comprende cerca de 700 especies que están distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del planeta, siendo América del Sur, América Central y el Sudeste Asiático las principales áreas donde se encuentran de manera abundante, de todas ellas, su gran mayoría tienen aplicación en medicina tradicional y como remedios antisépticos y anti-infecciosos<sup>1</sup>. En Ecuador el género *Piper* cuenta con 157 especies nativas y 61 son endémicas, entre las cuales se incluye *Piper ecuadorensis*<sup>2</sup>.

En cuanto a su química, según estudios realizados por Roring & Von Poser, el género *Piper* agrupa siete metabolitos secundarios principales: amidas, lignanos y neolignanos, flavonoides, cavalactonas, alcaloides, ciclohexanos oxigenados, así como también aceites esenciales, entre otros<sup>3</sup>.

En los últimos años, la investigación de los metabolitos secundarios del género *Piper* ha incrementado de forma significativa, dado que, fitoquímicamente, varias especies de *Piper* han demostrado una interesante actividad antifúngica, entre ellas: *P. elongatum* Vahl<sup>4,5</sup>, *P. fulvescens* C.DC.<sup>4,6</sup>, *P. aduncum* L.<sup>4,7</sup>, *P. crassinervium* Kunth<sup>4,8</sup>, *P. lanceaefolium* Kunth<sup>4,9</sup>, *P. angustifolium* Lam.<sup>4</sup>, *P. guineense* Schumacher y Tonn.<sup>4,10</sup>, *P. tuberculatum* Jacq., *P. arboreum* Aubl., *P. hispidum* Sw.<sup>4</sup> y *P. coruscans* Kunth<sup>4,11</sup>.

*Piper ecuadorensis* Sodiro, tradicionalmente conocida como matico de monte<sup>12</sup>, es un arbusto nativo de 2 metros de altura que crece de manera silvestre en las provincias de Carchi, Pichincha y Zamora Chinchipe entre los 0 y 2500 m s.n.m.<sup>13</sup>, por sus reconocidas propiedades terapéuticas *P. ecuadorensis* es ampliamente utilizada en medicina tradicional en la provincia de Loja (sur de Ecuador), tanto por los pobladores de la provincia de Zamora Chinchipe que la emplean para lavar y cicatrizar heridas de la piel<sup>14</sup>. Así como en la comunidad indígena Saraguro perteneciente a la provincia de Loja, quienes utilizan las partes aérea de *P. ecuadorensis* en mezcla con otras plantas para el tratamiento del "mal de aire"<sup>15</sup>, además de ser usada como cicatrizante, antiséptico de heridas y desinfectante<sup>16,12</sup>.

Debido a que los fármacos disponibles en la actualidad presentan una toxicidad importante y producen recurrencia o causan resistencia a cierto tipo de padecimiento, surge la necesidad de contar con nuevas sustancias naturales con propiedades antimicrobianas. Con estos antecedentes, el objetivo del presente estudio es la elaboración de un fitopreparado antifúngico semisólido para uso tópico, a partir del extracto fluido etanólico de la especie *Piper ecuadorensis* Sodiro (matico de monte) y evaluar su actividad antifúngica para establecer su eficacia como tratamiento medicinal en contra de infecciones frecuentes en humanos causadas por diversos tipos de hongos. El extracto de *P. ecuadorensis* es de alto interés para nuestro medio, dado que podría ser un sustituto con mayor eficacia en referencia a los agentes microbianos producidos por rutas sintéticas, pues en estudios preliminares de esta especie se ha aislado dos flavonoides conocidos como pinocembrin y pinostrobin<sup>17,18</sup> los cuales han reportado una actividad antifúngica considerable de 62.5 µg/mL y 31.25 µg/mL frente a *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* respectivamente<sup>18</sup>. Análogamente, se ha divulgado la composición química del aceite esencial de *P. ecuadorensis*, en la que se evidencian como compuestos mayoritarios: bicilogermacreno (~13%) y 3-tujopsanona (~12%)<sup>19</sup>.

## MATERIALES Y METODOS

### Recolección y preparación del material vegetal

La especie *P. ecuadorensis*, fue recolectada en la provincia de Zamora Chinchipe, Ecuador, latitud 4°4'0.7'' S, longitud 78°57.293' O. Posteriormente, las partes aéreas de la planta (ramas y hojas) fueron transportadas en sacos de yute al laboratorio de tecnología Farmacéutica de la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL), donde se separaron y secaron a una temperatura de 37 °C por un periodo aproximado de 3 días, hasta lograr un porcentaje de humedad promedio de entre 4 y 6%. De manera continua, la muestra fue triturada y tamizada hasta alcanzar una granulometría entre 250 y 600  $\mu\text{m}^{20}$ . La recolección del material vegetal se la realizó mediante el permiso del Ministerio del Ambiente de Ecuador (N°001- IC-FLO-DBAP-VS-DRLZCH-MA). La planta fue identificada por el Mgtr. José Miguel Andrade Morocho en el Departamento de Química de la UTPL y una muestra de vegetal fue depositada en el Herbario de la UTPL (HUTPL) con el código N.º (PPN-pi-007).

### Métodos fisicoquímicos aplicados al análisis de drogas crudas

En la muestra vegetal en polvo se determinó el porcentaje de humedad, cenizas totales y cenizas solubles en agua, usando como referencia las técnicas sugeridas en el Manual de prácticas de farmacognosia y productos naturales<sup>21</sup>. De la misma manera, se determinó las cenizas insolubles en ácido clorhídrico, a partir del procedimiento indicado en Pharmacopeia National Formulary<sup>22</sup>.

### Obtención del extracto fluido de *Piper ecuadorensis* Sodiro

Con la finalidad de obtener el extracto de la especie *P. ecuadorensis*, mediante el proceso de percolación con etanol al 70%, se maceró el material vegetal en la mezcla hidroalcohólica durante 48 horas, seguido de una rotaevaporación a una temperatura de 35 °C, hasta alcanzar la eliminación de solvente y obtener un extracto con un mínimo contenido de humedad<sup>23</sup>.

### Evaluación de la actividad antifúngica del extracto

Para determinar la actividad antifúngica de *P. ecuadorensis*, se emplearon hongos esporulados (dermatofitos) *Trichophyton mentagrophytes* ATCC® 28185 y *Trichophyton rubrum* ATCC® 28188. El cultivo de hongos fue realizado sobre Caldo Sabouraud a 28 °C durante un periodo de tiempo aproximado de 14-16 horas en agitación constante (120 rpm). Para los respectivos controles de los cultivos, se empleó DMSO (Dimetil sulfóxido) para el control negativo e Itraconazol 1 mg/mL para el control positivo.

Por otro lado, la determinación de la concentración mínima inhibitoria fue ejecutada en base al método Reference Method for Both Dilution Antifungal Susceptibility Testin of Filamentous Fungi, M 38-A<sup>24</sup>. De esta manera, se partió de una solución de 20 mg/mL de extracto disuelto en DMSO y se realizaron soluciones dobles seriadas del extracto, ajustando los siguientes parámetros: concentración final del inóculo,  $5 \times 10^4$  esporas/mL y concentración final de extracto de 1000 a 0.5  $\mu\text{g/mL}$ . Como control positivo se empleó una solución de 1 mg/mL de Itraconazol. Se incubaron las placas a 28°C y se monitoreó el crecimiento de los hongos hasta las 96 horas de aplicación<sup>24,25</sup>.

### Elaboración de la crema tópica

Se fabricó un lote de 1 kg del fitopreparado semi-sólido (crema). Los excipientes utilizados en la formulación fueron los siguientes: extracto fluido de *Piper ecuadorensis*, alcohol cetílico, vaselina líquida, vaselina sólida, cetomacrogol, propilenglicol, metil parabeno, propil parabeno y agua purificada<sup>20</sup>; obteniéndose de esta forma una crema del tipo O/W (oleoso/acuoso)<sup>26</sup>. Con referencia al porcentaje de extracto empleado, se consideró la CMI (concentración mínima inhibitoria) presentada por el mismo, y basados en el procedimiento reportado

en Sharapin (2000), en el apartado “Modelos de fichas de producción de fitofármacos semisólidos”<sup>20</sup>. La formulación del fitopreparado semi-sólido del tipo O/W de la especie *P. ecuadorensis*, se describe en el tabla 1.

<b>Función</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Cantidad (Fórmula Unitaria mg)</b>	<b>Cantidad (Fórmula de manufactura g)</b>
Agente reológico	Alcohol cetílico	800,00	8,00
Fase oleosa	Vaselina líquida	1500,00	15,00
Fase oleosa	Vaselina Sólida	500,00	5,00
Emulgente aniónico	Cetomacrogol	800,00	8,00
Agente penetrante	Propilenglicol	500,00	5,00
Conservantes	Metil parabeno	18,00	0,18
Conservantes	Propilparabeno	2,00	0,02
Principio activo	Extracto <i>P. ecuadorensis</i>	6,25	0.06
Fase acuosa	Agua	c.s.p	c.s.p
<b>TOTAL</b>		<b>10000,00</b>	<b>100,00</b>

Tabla 1. Formulación de la crema antifúngica de *P. ecuadorensis*.

### Condiciones de almacenamiento de la crema

La crema fue envasada en tubos colapsibles de 10 g de capacidad<sup>27</sup> y almacenada en las condiciones propuestas por el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI del Ecuador<sup>28</sup>.

### Métodos de evaluación de la crema

Para la determinación de los parámetros fisicoquímicos de la crema de *P. ecuadorensis*, tales como: densidad, pH y extensibilidad, se realizaron en referencia a las normas INEN 1595 1987-10, INEN 1596 1987-10 para pH y densidad respectivamente<sup>29,30</sup>. Para la determinación del índice de extensibilidad, se aplicó la metodología descrita en los estudios realizados por Pérez-Bueno et al.; Martínez Carmona & Tobón Zapata<sup>31,32</sup>.

### Análisis microbiológico

Se determinó el límite de contaminantes microbiológicos presentes en la crema, al inicio y al final del estudio, en base a procedimientos reportados en Farmacopea Americana USP-NF 32<sup>33</sup>.

### Características organolépticas

Como características organolépticas, se describieron cuatro parámetros: aspecto físico, coloración, textura y olor, diferenciados mediante la apreciación sensorial de los autores del presente estudio. Por otro lado, es importante mencionar la utilización de tablas colorimétricas para la apreciación del color de la crema de *P. ecuadorensis*.

### Actividad antifúngica de la crema

Para determinar la actividad antifúngica de la crema se utilizó placas TC<sub>24</sub>, partiendo de una concentración de 100 mg de crema en 1 mL de Agar Sabouraud y 1 mL de inóculo fúngico. Análogamente, se procedió con el mismo procedimiento para evaluar la actividad antifúngica del extracto, control negativo (DMSO) y control positivo (Itraconazol). Para la lectura de los resultados, estos fueron interpretados en base al crecimiento de hongo<sup>34</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis fisicoquímico de material vegetal

Con respecto al análisis fisicoquímico del material vegetal de partida, la especie *Piper ecuadorensis*, presenta un porcentaje de cenizas totales de 7.5% y cenizas insolubles en ácido clorhídrico del 1.5%. con un valor de 9.4% de humedad, según Cuellar & Miranda, 2014, estos valores se encuentran dentro del límite máximo permisible, el cual corresponde a un valor del 2% para cenizas insolubles en HCl y de 8-14% de humedad presente en material vegetal para extractos fluidos<sup>21</sup>.

Análisis	<i>P. ecuadorensis</i> (%)
Cenizas totales	7.5
Cenizas solubles en agua	4.1
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico	1.5
Contenido humedad	9.4

Tabla 2. Análisis físico-químico del material vegetal seco.

### Análisis organoléptico de la crema antifúngica

El preparado semi-sólido presenta un aspecto homogéneo, una textura cremosa y un color yellow-green group 145 D (característico del extracto), a diferencia de las cremas almacenadas a temperatura ambiente y a 30 °C ± 2 que, al tercer mes, presentaron un ligero cambio de color a yellow-green group 150 D (tabla 3).

De la misma manera, referente al tercer parámetro en estudio, todas las muestras poseen consistencia espesa y cremosa, destacando que las almacenadas a 45 °C ± 2, una vez transcurrido el periodo de 3 meses, mostraron tendencia a la fluidez.

ANÁLISIS	CONDICIONES	MESES			
		0	1	2	3
ASPECTO	Ambiente	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
	30 °C	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
	45 °C	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
TEXTURA	Ambiente	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Cremosa
	30 °C	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Cremosa
	45 °C	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Cremosa
CONSISTENCIA	Ambiente	Crema	Crema	Crema	Crema
	30 °C	Crema	Crema	Crema	Crema
	45 °C	Crema	Crema	Crema	Crema
COLOR	Ambiente	Yellow-green group 145 D	Yellow-green group 145 D	Yellow-green group 145 D	Yellow-green group 150 D
	30 °C	Yellow-green group 145 D	Yellow-green group 145 D	Yellow-green group 145 D	Yellow-green group 150 D

	45 °C	Yellow-green group 145 D	Yellow-green group 145 D	Yellow-green group 145 D	Yellow-green group 150 D
--	-------	--------------------------------	--------------------------------	--------------------------------	--------------------------------

**Tabla 3. Resultado de las pruebas organolépticas de la crema de *P. ecuadorensis*.**

### Análisis fisicoquímico de la crema

En la tabla 4 se indican los resultados de los análisis fisicoquímicos de la crema a temperatura ambiente, 30 °C ± 2 y 45 °C ± 2, los mismos que fueron evaluados durante un periodo de 3 meses. Consecuentemente, se realizó un análisis estadístico utilizando el programa XLSTAT, obteniendo distintos resultados que mostraron lo siguiente: entre los factores pH y extensibilidad no existe una diferencia significativa, sin embargo, en cuanto a la densidad, existe una diferencia al comparar las condiciones de almacenamiento. Este hecho puede atribuirse a que el parámetro en estudio depende de la composición de la fase oleosa, la proporción de las fases y la concentración del emulsificante, que se encuentran fundamentadas en el grado de emulsificación. Por otro lado, se evidencia una relación directamente proporcional en referencia al comportamiento de la consistencia de la crema, es decir que, mientras más alta es la temperatura, la consistencia del producto pierde cierto nivel de viscosidad y presenta mayor fluidez, concluyendo que, la densidad también disminuye. Este fenómeno se ratifica mencionando que las cremas almacenadas a 45°C ± 2 no presentaron resistencia a la viscosidad a partir del 3 mes<sup>14</sup>.

ANALISIS	UNIDADES	CONDICIONES	MESES			
			0	1	2	3
Densidad	g/cm <sup>3</sup>	Ambiente	0.8625	0.8648	0.8649	0.8651
		30 °C	-	0.8692	0.8689	0.8695
		45 °C	-	0.8671	0.8589	0.8019
pH	-	Ambiente	5.4	5.6	5.7	5.8
		30 °C	-	5.7	5.7	5.8
		45 °C	-	5.4	5.4	5.9
Extensi- bilidad	cm <sup>2</sup>	Ambiente	81.71	85.43	85.93	85.97
		30 °C	-	84.59	85.38	85.40
		45 °C	-	85.44	85.48	86.54

**Tabla 4. Resultado del análisis fisicoquímico de la crema de *Piper ecuadorensis*.**

### Evaluación de la actividad antifúngica de la crema

Se comprobó que la crema (0.06%) sólo presentó actividad antifúngica frente a *Trichophyton rubrum* ATCC® 28188 hasta el primer mes de almacenamiento en todas las condiciones evaluadas. Es por ello que se procedió a realizar dos formulaciones adicionales en condiciones diferentes a las concentraciones del extracto, tabla 5, con el fin único de comprobar la actividad antifúngica del producto de *P. ecuadorensis*. Para validar estas formulaciones se procedió en base a la misma metodología empleada para la evaluación de la crema al 0.06% durante 3 meses.

CREMA (%)	Microorganismo	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
0.06	Dosis $\mu\text{g/mL}$	NA	60
0.11		NA	100
1		1000	1000

NA: no activo.

**Tabla 5. Dosis del extracto (en la crema) para la inhibición del crecimiento fúngico.**

La crema al 0.1% sólo presentó actividad frente a *Trichophyton rubrum* ATCC® 28188 a una dosis de 100  $\mu\text{g/mL}$ , mientras que la crema al 1% es activa frente a los dos dermatofitos: *Trichophyton mentagrophytes* ATCC® 28185 y *Trichophyton rubrum* ATCC® 28188 a una dosis de 1000  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente, durante 1 mes. En comparación con un estudio realizado por Ramírez et al. (2013), se reporta la capacidad antidermatofita del extracto metanólico de *P. ecuadorensis* contra *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* mostrando una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 31.25 y 62.5 de  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente<sup>18</sup>. De manera similar, Palacios et al. (2009), evaluó la actividad antifúngica de los extractos etanólicos crudos de las partes aéreas de *Piper tuberculatum* sobre *Trichophyton rubrum*, mismos que fueron altamente activos desde 0.5 a 1.5 mg/mL, inhibiendo el 100% del crecimiento del hongo<sup>35</sup>. Además, el extracto etanólico de *Piper betle* mostró actividad antidermatofítica sobre *T. mentagrophytes* con una  $\text{CI}_{50}$  entre 110,4—119,0  $\mu\text{g/mL}$  (Trakranrungsie et al., 2008)<sup>36</sup>.

Los resultados de este estudio demuestran que la crema tópica formulada con extracto de *Piper ecuadorensis* Sodiro presenta una notable actividad antifúngica *in vitro* frente a *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Microsporum canis*, tres de los principales hongos dermatofitos responsables de infecciones cutáneas en humanos. Concretamente, la crema al 1% demostró ser activa frente a *T. mentagrophytes* y *T. rubrum* a una dosis de 1000  $\mu\text{g/mL}$  durante un mes. En cambio, la crema al 0.1% solo presentó actividad frente a *T. rubrum* a una dosis de 100  $\mu\text{g/mL}$ .

Estos hallazgos son consistentes con investigaciones previas que han reportado la capacidad antidermatofítica del extracto de *P. ecuadorensis*. Ramírez et al. (2013)<sup>18</sup> observaron una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 31.25  $\mu\text{g/mL}$  para *T. mentagrophytes* y 62.5  $\mu\text{g/mL}$  para *T. rubrum* utilizando un extracto metanólico de esta planta. Palacios et al. (2009)<sup>35</sup> también reportaron una alta actividad antifúngica de extractos etanólicos de *Piper tuberculatum* sobre *T. rubrum* a concentraciones de 0.5 a 1.5 mg/mL. Además, Trakranrungsie et al. (2008)<sup>36</sup> encontraron que el extracto etanólico de *Piper betle* inhibía el crecimiento de *T. mentagrophytes* con una  $\text{CI}_{50}$  entre 110.4 y 119.0  $\mu\text{g/mL}$ .

La actividad antifúngica observada podría atribuirse a la presencia de diversos compuestos bioactivos en el extracto de *Piper ecuadorensis*. Tabanca et al. (2001)<sup>38</sup> atribuyen la capacidad antifúngica de varias especies aromáticas al biclogermacreno, un compuesto mayoritario en la fracción volátil de *P. ecuadorensis*. Ruiz-Vázquez et al. (2022)<sup>39</sup> identificaron monoterpenos y sesquiterpenos en aceites esenciales de diferentes especies de *Piper* que inhibieron el crecimiento de hongos como *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria alternata*. Además, se ha reportado que el pinocembrin, un flavonoide aislado de *P. ecuadorensis*, exhibe actividad antifúngica contra *T. rubrum* y *T. mentagrophytes* a una concentración de 125  $\mu\text{g/mL}$ <sup>18,40</sup>.

Aunque el mecanismo de acción preciso de la crema antifúngica aún no se ha dilucidado, es posible que estos compuestos bioactivos actúen sinérgicamente para interferir con la síntesis de la pared celular de los hongos, alterar la permeabilidad de la membrana celular o inhibir enzimas esenciales para el crecimiento fúngico. Futuros estudios podrían enfocarse en determinar el mecanismo de acción específico de la crema y los compuestos responsables de la actividad antifúngica.

Es importante reconocer las limitaciones de este estudio, como el tamaño de la muestra, el tiempo de evaluación y las condiciones de almacenamiento. Además, se realizó *in vitro*, por lo que se necesitan estudios *in vivo* para confirmar la eficacia y seguridad de la crema en el tratamiento de infecciones cutáneas en humanos.

A pesar de estas limitaciones, los resultados obtenidos son prometedores y sugieren que la crema tópica con extracto de *Piper ecuadorensis* podría ser una alternativa natural para el tratamiento de infecciones fúngicas de la piel. Futuros estudios clínicos podrían confirmar su eficacia en el tratamiento de diferentes micosis cutáneas.

---

## CONCLUSIONES

Se determinó que el extracto hidroalcohólico de la especie *P. ecuadorensis* presentó una marcada actividad antifúngica, por lo que se desarrolló una formulación farmacéutica semisólida con promisoría actividad antimicótica frente a *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*. Consecuentemente, se desarrolló una crema tópica antifúngica, misma que fue sometida a tres condiciones de almacenamiento diferentes. Asimismo, los resultados obtenidos de los ensayos de estabilidad no presentaron cambios significativos en las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas, por lo que se concluye que la crema mantuvo su estabilidad durante el periodo de evaluación establecido de tres meses. Adicionalmente, se confirmó la actividad antifúngica de la crema hasta el primer mes que se evaluó la actividad, lo cual respalda el uso de esta planta en la medicina tradicional para tratar afecciones tópicas iniciadas por estos tipos de dermatófitos. En base a estos resultados, se valida la información de su uso tradicional como antifúngico en especial para tratar afecciones de la piel típico de la especie.

**Material suplementario:** No aplica.

**Contribuciones:** "Conceptualización, S.O. and C.A.; metodología, G.R.; validación, S.O., J.R.; investigación, G.R.; recopilación de datos, L.N.C.; —preparación del manuscrito, C.A., J.R., G.R., L.N.C.; escritura—revisión y edición S.O., C.A. Todos los autores han leído y están de acuerdo con la publicación de la versión actual del manuscrito.

**Fondos:** No aplica.

**Disponibilidad de datos:** Todos los datos se encuentran contenidos en el artículo.

**Agradecimientos:** Al Departamento de Química de la Universidad Técnica Particular de Loja por el financiamiento de la investigación.

**Conflictos de interés:** Los autores declaran que no existen conflictos de interés.



## REFERENCIAS

- Flores, E.; Jiménez, A.; Ravelo, A.; Bourdy, G.; Giménez, A. Estudio Fitoquímico de catorce especies del Género Piper con actividad antifúngica y/o Leishmanicida in vitro. *Biofarbo* **2000**, *8*, 9-16. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-316092?lang=es>
- León-Yáñez, S.; Valencia, R.; Pitmam, N.; Endara, L.; Ulloa, C.; Navarrete, H. *Libro Rojo de plantas endémicas del Ecuador*, 2nd ed.; Publicaciones del Herbario QCA; Pontificia Universidad Católica del Ecuador: Quito, Ecuador, **2011**, 367–369.
- Rorig, L.R.; Poser, G. L.V. InvestigaçãO Fitoquimica em especies de Piperaceae. *Rev Bras Farm* **1991**, *72*, 15-17.
- Navickiene, H.; Alecio, A.; Kato, J.; Bolzani, V.; Young, C.; Cavalheiro, J.; Furlan, M. Antifungal amides from Piper hispidum and Piper tuberculatum. *Phytochem.* **2000**, *55(6)*, 621-626. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00226-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00226-0)
- Masuoka, Ch.; Ono, M.; Ito, Y.; Nohara, T. Antioxidative Constituents from the Aerial Part of Piper elongatum VAHL. *Food Sci. Technol. Int. Tokyo* **1997**, *3(3)*, 285-289. <https://doi.org/10.3136/fsti9596t9798.3.285>
- Vila, R.; Milo, B.; Tomi, F.; Casanova, J.; Ferro, E.A. Chemical composition of the essential oil from the leaves of Piper fulvescens, a plant traditionally used in Paraguay. *J. Ethnopharmacol.* **2001**, *76*, 105-107. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00211-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00211-2)
- Monzote, L.; Scull, R.; Cos, P.; Setzer, W.N. Essential Oil from Piper aduncum: Chemical Analysis, Antimicrobial Assessment, and Literature Review. *Medicines* **2017**, *4*, 49. <https://doi.org/10.3390/medicines4030049>
- Lopes, A.A.; López, S.N.; Regasini, L.R.; Batista, J.M.; Ambrósio, D.L.; Kato, M.J; Bolzani, V.S.; Barretto, R.M.; Furlan, M. Actividad in vitro de compuestos aislados de *Piper crassinervium* contra Trypanosoma cruzi. *Invest. Prod. Nat.* **2008**, *22:12*, 1040-1046.
- Valarezo, E.; Benítez, L.; Palacio, C.; Aguilar, S.; Armijos, Ch.; Calva, J.; Ramírez, J. Volatile and non-volatile metabolite study of endemic ecuadorian specie Piper lanceifolium Kunth. *J. Essent. Oil Res.* **2020**, *33(2)*, 182-188. <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1848650>
- Kambiré, D.A.; Yapi, T.A.; Boti, J.B. Composición química del aceite esencial de la hoja de Piper umbellatum y del aceite esencial de la parte aérea de Piper guineense de Costa de Marfil. *Nat. Prod. Commun.* **2019**, *14(6)*.
- Gilardoni, G.; Matute, Y.; Ramírez, J. Chemical and Enantioselective Analysis of the Leaf Essential Oil from Piper coruscans Kunth (Piperaceae), a Costal and Amazonian Native Species of Ecuador. *Plants* **2020**, *9(6)*, 791. <https://doi.org/10.3390/plants9060791>
- Armijos, C.; Ramírez, J.; Salinas, M.; Vidari, G.; Suárez, A. I. Pharmacology and phytochemistry of ecuadorian medicinal plants: An update and perspectives. *Pharmaceuticals* **2021**, *14(11)*, 1145. <https://doi.org/10.3390/ph14111145>
- Tene, V.; Malagón, O.; Finzi, P. V.; Vidari, G.; Armijos, Ch.; Zaragoza, T. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Loja and Zamora-Chinchiipe, Ecuador. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *111*, 63-81. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.032>
- Signorelli, I.; Isla, M. Elaboración de una crema para uso tópico a base de Urtica dioica L. *Rev. Fac. Farm.* **2005**, *47 (2)*, 26-31.
- Andrade, J.M.; Armijos, C.; Malagón, O.; Lucero, H. Plantas Silvestres empleadas por la etnia Saraguro en la Parroquia San Lucas, Provincia de Loja, Ecuador, 1st ed. Ediciones UTPL, Loja, Ecuador, **2009**.

16. Ulloa C., Moller P. *Árboles y Arbustos de los Andes Ecuatorianos*, 2nd ed.; Editorial Abya-yala, Quito-Ecuador, **1995**.
17. Ojeda-Riascos, S.; Valdivieso, M.; Gilardoni, G.; Calva, J.; Morocho, V.; Valarezo, E.; Malagon, O. Development and validation of a high-performance liquid chromatographic method for the determination of pinocembrin in leaves of piper ecuadorese sodiro. *AXIOMA* **2020**, *21*, 48-52.
18. Ramírez, J.; Cartuche, L.; Morocho, V.; Aguilar, S.; Malagón, O. Antifungal activity of raw extract and flavanons isolated from Piper ecuadorese from Ecuador. *Rev. Bras. Farm.* **2013**, *23(2)*, 370-373. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000012>
19. Valarezo, E.; Flores-Maza, P.; Cartuche, L.; Ojeda-Riascos, S.; Ramírez, J. Phytochemical profile, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil extracted from Ecuadorian species Piper ecuadorese sodiro. *Nat. Prod. Res.* **2021**, *35(24)*, 6014-6019. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1813138>
20. Sharapin, N. *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapeúticos*. 1st ed.; Editorial Convenio Andrés Bello, Bogotá-Colombia, **2000**.
21. Cuéllar, A.; Miranda, M. *Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales*, 1 st ed.; Editorial Poligráfica Félix Valera, Habana-Cuba, **2014**.
22. Pharmacopeia National Formulary. Normas de Estándar Internacional USP XXVIII NF 18., 1985. **2002**.
23. Pampin, L.A.; Quevedo, A.P.; Pulpeiro, O.G.; Rivera, A.B.; Martínez, L.S.; Nuñez-Sellés, A. S. Estabilidad de la crema elaborada a partir del extracto seco de la corteza de Mangifera indica L. (Vi-mang). *Lat. Am. J. Pharm.* **2003**, *22(4)*, 335-338.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Method M38-A. Reference Method for Both Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi, *3 rd ed.*; Wayne Ed. 22: 1-27, **2017**.
25. Cos, P.; Vlietinck, A.; Vanden Berghe, D.; Maes, L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *J. Ethnopharmacol.* **2006**, *106*, 290-302. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.04.003>
26. Rowe, C. R.; Sheskey, P.J.; Quinn, M.E. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6st ed.; Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association 5, Grayslake, USA, **2009**.
27. Silva, P.; Tene, A. Adaptación tecnológica para la elaboración de un fitopreparado semi-sólido para aliviar la tos causado por resfrió a partir de Lepidium chichicara Desv., Mentha piperita L., Solanum americanum Mill., Clinopodium sp. L., en base a los conocimientos ancestrales de los Hampi yachak-kuna de San Lucas - Loja – Ecuador. Ediciones UTPL, 2008.
28. INSPI. Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública del Ecuador. **2022**. <https://www.investigacionsalud.gob.ec/>
29. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACION. Pasta Dental. Determinación del pH. NTE-INEN 1595 1987-10, **1987**.
30. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACION. Pasta dental. Determinación de la densidad. NTE-INEN 1596 1987-10, **2012**.
31. Pérez-Bueno, T.; Rodríguez-Perdomo, Y.; Morales-Lacarrere, I.; Soler-Roger, D. M.; de la Paz Martín-Viaña, N. Comportamiento reológico y extensibilidad de una formulación semisólida a partir del extracto acuoso de Rhizophora mangle L. *Tecnología, ciencia, educación* **2011**, *26(2)*, 75-79.
32. Martínez Carmona, D. M.; Tobón Zapata, G. E. Incorporación de un novedoso complejo de tinidazol con propiedades antimicrobianas a dos formas semisólidas de uso tópico. *Rev Colomb Cienc Quím-Farm* **2021**, *50(2)*, 490-504.
33. USP NF 32. Farmacopea de los Estados Unidos de América. Rockville 1, **2014**.
34. Cáceres A. *Plantas de Uso Medicinal en Guatemala*. Editorial Universitaria, Guatemala, 1996.

35. Palacios, Z. G., Delgado, G. E., Moreno, M. C., Kato, M. J., & Rojas, C. Actividad antifúngica in vitro de extractos crudos de *Piper tuberculatum*. *Revista peruana de biología* **2009**, *16*(2), 209-214.
36. Trakranungsie N., A. Chatchawanchonteera & W. Khunkitti. Etnoveterinary study for antidermatophytic activity of *Piper betle*, *Alpinia galanga* and *Allium ascalonicum* extracts in vitro. *Res. Veter. Sci.* **2008**, *84*: 80-84.
37. Espinoza, L. C. E., Rivera, M. S., Bec, N., Robles, J. R., Larroque, C., & Armijos, C. Composición química y actividad Butirilcolinesterasa selectiva del aceite esencial de *Piper arboreum* Aubl. de Ecuador. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* **2023**, *22*(5), 628-635.
38. Tabanca, N.; Demirci, F.; Ozek, T.; Tumen, G.; Baser, KHC. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *origanum*×*dolichosiphon* P. H. Davis. *Chem Nat Compd.* **2001**, *37*(3):238-241. <https://doi.org/10.1023/A:1012513922871>
39. Ruiz-Vásquez, L., Ruiz Mesia, L., Caballero Ceferino, H. D., Ruiz Mesia, W., Andrés, M. F., Díaz, C. E., & Gonzalez-Coloma, A. Antifungal and herbicidal potential of *Piper* essential oils from the Peruvian Amazonia. *Plants* **2022**, *11*(14), 1793.
40. Rasul, A.; Millimouno, F. M.; Ali Eltayb, W.; Ali, M.; Li, J.; Li, X. Pinocembrin: A novel natural compound with versatile pharmacological and biological activities. *BioMed Res. Int.* **2013**, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2013/379850>

**Received:** May 19, 2024 / **Accepted:** September 30, 2024 / **Published:** December 15, 2024

**Citation:** Ojeda-Riascos S, Rivera G, Castillo L N , Chabaco Armijos J R. Crema tópica antifúngica elaborada con el extracto hidroalcohólico de la especie endémica *Piper ecuadorensis* Sodiro (matico). *Bionatura Journal* 2024; 1 (4) 11. <http://dx.doi.org/10.70099/BJ/2024.01.04.11>

**Additional information** Correspondence should be addressed to [jyramirez@utpl.edu.ec](mailto:jyramirez@utpl.edu.ec)

**Peer review information.** Bionatura thanks anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>

**ISSN.3020-7886**

All articles published by Bionatura Journal are made freely and permanently accessible online immediately upon publication, without subscription charges or registration barriers.

**Publisher's Note:** Bionatura Journal stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**Copyright:** © 2024 by the authors. They were submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).