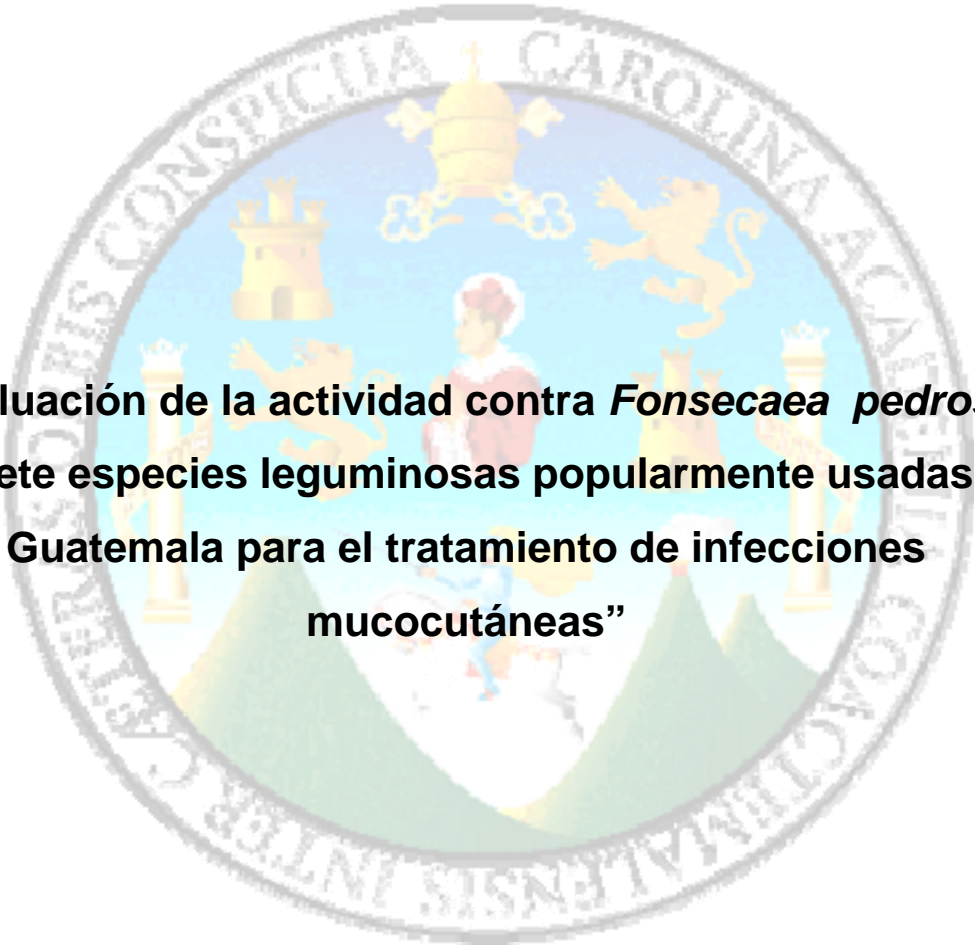


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or historical figure, seated on a throne. The figure is surrounded by various symbols, including a crown, a lion, and a shield. The text "UNIVERSITAS SAN CAROLINI CONSPICUA CAROLINA ACACIA" is inscribed around the top edge, and "SACERDOTIS INTER CONCIUMALENSIS" is inscribed around the bottom edge.

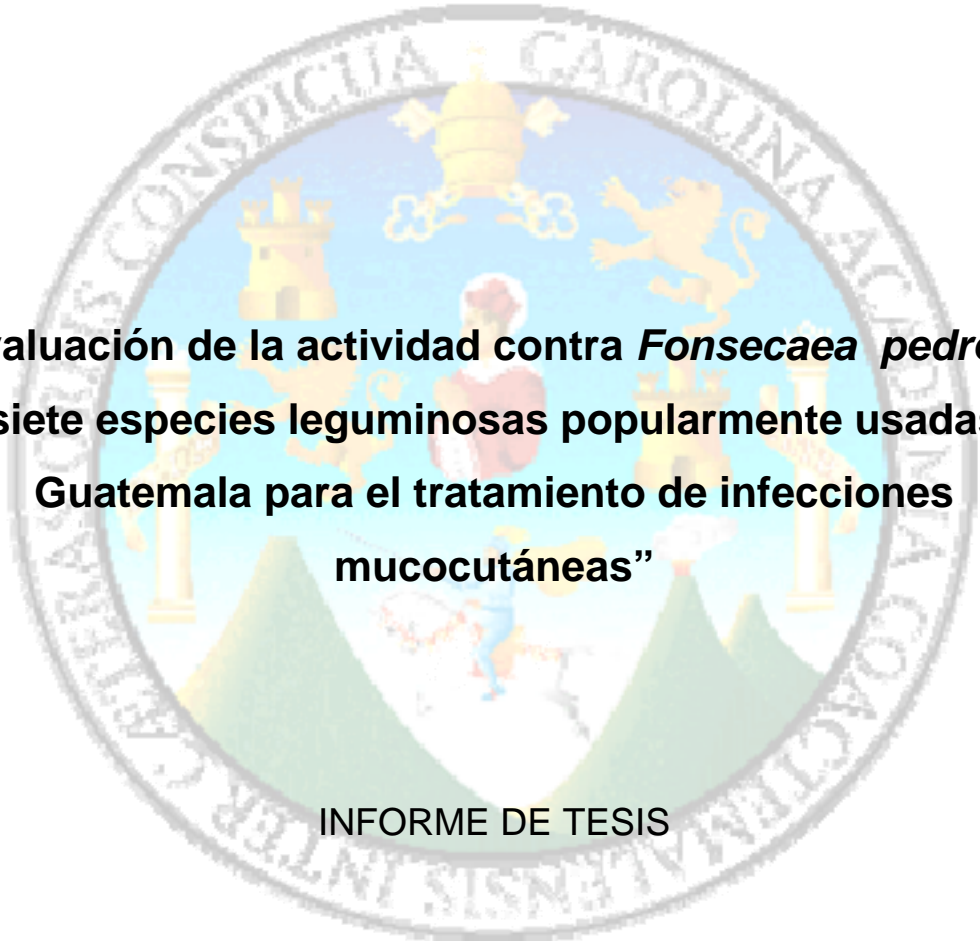
**“Evaluación de la actividad contra *Fonsecaea pedrosoi*
de siete especies leguminosas popularmente usadas en
Guatemala para el tratamiento de infecciones
mucocutáneas”**

Ana Beatriz Suárez Díaz

Química Bióloga

Guatemala, junio de 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a blue background, depicting a figure in a red and white robe. Above the shield is a golden crown and a lion rampant. The shield is flanked by two golden pillars. The entire emblem is set against a light blue background with a green mountain range at the bottom. The text "UNIVERSITAS CONSPICUA CAROLINA AC" is visible at the top of the seal, and "SANTAELENAE INTER-CENTRUM COACTUM" is at the bottom.

**“Evaluación de la actividad contra *Fonsecaea pedrosoi*
de siete especies leguminosas popularmente usadas en
Guatemala para el tratamiento de infecciones
mucocutáneas”**

INFORME DE TESIS

Presentado por

Ana Beatriz Suárez Díaz

Para optar al título de

Química Bióloga

Guatemala, junio de 2008

JUNTA DIRECTIVA

<i>Oscar Cóbar Pinto, Ph.D</i>	<i>Decano</i>
<i>Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto</i>	<i>Secretario</i>
<i>Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.</i>	<i>Vocal I</i>
<i>Licda. Liliana Vides de Urizar</i>	<i>Vocal II</i>
<i>Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez</i>	<i>Vocal III</i>
<i>Br. Mariesmeralda Arriaga Monterroso</i>	<i>Vocal IV</i>
<i>Br. José Juan Vega Pérez</i>	<i>Vocal V</i>

ACTO QUE DEDICO A:

- **Dios mi Padre**, el Dador y Sustentador de mi vida, a quien debo todo lo que soy.
- **Mis padres**, Julio y Beatriz, quienes con esfuerzo y dedicación han estado a mi lado ayudándome en cada etapa de mi vida.
- **Mis hermanos**, Pablo y Ana Rebeca por ser de los mejores amigos que tengo.
- **Mi país, Guatemala**. Que mi servicio como profesional pueda contribuir a mejorar nuestra nación.

AGRADECIMIENTOS

- **A Dios**, por ser TODO para mí, y darme la oportunidad de culminar mi carrera con éxito.
- **A mis padres**, Julio y Beatriz, por su amor y apoyo incondicional durante mis años de estudio. ¡Gracias por todo! Los amo.
- **A mis hermanos**, Pablo y Ana Rebeca, por estar siempre conmigo y ayudarme cuando lo necesité. Son una bendición, los amo.
- **A la Universidad de San Carlos de Guatemala**, por darme la oportunidad de superarme y ahora como profesional servir a mi país.
- **A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia** por todo lo que me enseñó y por ser mi casa durante el tiempo de mi carrera, especialmente al Departamento de Citohistología por su apoyo en la realización de este trabajo.
- **A mis asesores**, Lic. Armando Cáceres y Licda. Margarita Paz, por su valiosa ayuda en la elaboración de mi informe.
- **A la Licda. Isabel Gaitán**, por su paciencia y colaboración en el transcurso de mi trabajo de tesis.
- **A mis amigas y colegas**, en especial a Ana Margarita, Keila y Marlitt, gracias por su amistad, cariño y los momentos inolvidables que pasamos juntas.

ÍNDICE

	Pág.
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	4
A. Cromomicosis	4
B. Medicina Tradicional	11
1. Etnobotánica y Etnofarmacología	12
2. Fitoterapia	12
C. Leguminosas	13
1. Monografías de las plantas del estudio	14
a) <i>Cassia grandis</i> L.	14
b) <i>Diphysa robinoides</i> Benth.	14
c) <i>Hymenaea courbaril</i> L.	15
d) <i>Phaseolus lunatus</i> L.	16
e) <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	17
f) <i>Senna occidentalis</i> L.	18
g) <i>Vicia faba</i> L.	19
IV. JUSTIFICACIÓN	21
V. OBJETIVOS	22
VI. HIPÓTESIS	23
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	24
VIII. RESULTADOS	30
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	32
X. CONCLUSIONES	34
XI. RECOMENDACIONES	35
XII. REFERENCIAS	36
XIII. ANEXOS	42

I. RESUMEN

La cromomicosis es una micosis subcutánea crónica producida por inoculación traumática percutánea de hongos dematiáceos; en Guatemala, *Fonsecaea pedrosoi* es el único agente causal aislado. La farmacoterapia para el tratamiento de la cromomicosis es a menudo poco efectiva y con variedad de efectos adversos indeseables, por lo que se buscan nuevas alternativas fitoterapéuticas que reduzcan al máximo estos efectos y que sean seguras y efectivas. En Guatemala, las leguminosas son de gran importancia para la fitoterapia, ya que algunas han reportado actividad antimicrobiana y antifúngica.

En el presente estudio se evaluó la actividad *in vitro* contra *Fonsecaea pedrosoi* de los extractos etanólicos de siete especies leguminosas nativas guatemaltecas seleccionadas en base a su uso popular contra afecciones dermatomucosas, según su disponibilidad y tiempo ideal de recolección y cuya actividad contra *Fonsecaea pedrosoi* no había sido estudiada previamente. Estas son: *Cassia grandis* L. (Cañandonga, hoja), *Diphysa robinoides* Benth. (Guachipilín, hoja), *Hymenaea courbaril* L. (Guapinol, hoja), *Phaseolus lunatus* L. (Frijol cimarrón, semilla), *Phaseolus vulgaris* L. (Frijol común, hoja), *Senna occidentalis* L. (Frijolillo, hoja) y *Vicia faba* L. (Haba, hoja).

Para la evaluación de la actividad antifúngica de los extractos contra *Fonsecaea pedrosoi* se realizó un bioensayo de tamizaje utilizando la metodología descrita por Brancato y Golding modificada por McRae y colaboradores. Como resultado se obtuvieron tres extractos activos ($p < 0,10$) contra *Fonsecaea pedrosoi*: *Hymenaea courbaril*, *Phaseolus vulgaris* y *Senna occidentalis*, las cuales presentaron una concentración inhibitoria mínima de 1 mg/mL. Los extractos de *Cassia grandis*, *Diphysa robinoides*, *Phaseolus lunatus* y *Vicia faba* no presentaron actividad contra este hongo.

Los resultados de este estudio validan el uso popular de las tres especies leguminosas con actividad antifúngica, por lo que se recomienda determinar sus sustancias activas e identificar la composición molecular de las mismas.

II. INTRODUCCIÓN

Las micosis subcutáneas son infecciones que afectan los tejidos subcutáneos, ganglios linfáticos y raramente pueden diseminarse y afectar otros órganos como pulmones, articulaciones y hueso. Las micosis subcutáneas más importantes en Guatemala son la esporotricosis y la cromomicosis (1, 2).

La cromomicosis es una micosis de evolución extremadamente crónica, poco frecuente, que afecta piel y tejido celular subcutáneo. Es producida por inoculación traumática percutánea de hongos dematiáceos. En Guatemala *Fonsecaea pedrosoi* es el único agente causal aislado de la cromomicosis (1-5).

El tratamiento de la cromomicosis ha sido y aún sigue siendo un reto para el clínico por no ocurrir cura espontánea. Por lo tanto el control de la endemia está en la detección de los casos incipientes y el tratamiento adecuado. Se han utilizado diferentes tratamientos para la enfermedad con resultados variables no siempre satisfactorios debido a los efectos adversos y a la toxicidad que estos presentan (3, 5-8).

El conocimiento popular de las plantas forma parte de la herencia cultural de los pueblos; la fitoterapia es el uso de plantas medicinales o partes de ellas con fines terapéuticos. En los últimos años ha retomado importancia el estudio de las plantas medicinales como fuente de fitofármacos. En la actualidad, a pesar del gran desarrollo de las industrias farmacéuticas, las plantas medicinales continúan siendo un valioso arsenal de sustancias biológicamente activas y precursores en la elaboración de medicamentos. Las opciones a base de plantas medicinales presentan una inmensa ventaja con respecto a los tratamientos químicos y sus efectos indeseables están limitados. Sin embargo, a pesar de que han aumentado las investigaciones y estudios científicos sobre plantas medicinales, todavía no se conocen muchos de las sustancias activas a los que deben las plantas sus extraordinarias cualidades (9-11).

Tomando en cuenta que la cromomicosis afecta a la población guatemalteca y que la mayoría de drogas y preparaciones antimicóticos en el país son sintéticas, es de gran importancia la investigación de plantas medicinales que posean actividad contra *Fonsecaea pedrosoi* para plantear alternativas de tratamiento. Por lo anterior se justifica

la validación del uso de algunas especies vegetales popularmente usadas en el tratamiento de micosis (1, 10).

Este estudio evaluó la actividad contra el hongo *Fonsecaea pedrosoi* de siete extractos etanólicos de plantas leguminosas popularmente usadas para el tratamiento de afecciones mucocutáneas (hoja de *Cassia grandis*, hoja de *Diphysa robinoides*, hoja de *Hymenaea courbaril*, semilla de *Phaseolus lunatus*, hoja de *Phaseolus vulgaris*, hoja de *Senna occidentalis* y hoja de *Vicia faba*).

III. ANTECEDENTES

A. Cromomicosis

La cromomicosis es una micosis subcutánea de evolución extremadamente crónica, que afecta piel y tejido celular subcutáneo, localizada preferentemente en miembros inferiores (2-5, 12).

Esta micosis es producida por inoculación traumática percutánea, con diversos vegetales, de hongos pigmentados, llamados dematiáceos, particularmente *Fonsecaea pedrosoi*, *Phialophora verrucosa*, *Cladophialophora carrionii* y *Fonsecaea compacta* (6, 13-15).

Fue descrita por primera vez por Pedroso, en 1911 y señalada en Brasil por Max Rudolph en 1914. Sin embargo, el término cromoblastomicosis no fue usado sino hasta el año 1922 en Brasil por Terra y colaboradores. Esta denominación, que persiste por la costumbre, ha sido objetada porque los hongos productores de la afección no producen esporas, ni formación de blastosporas en su vida parasitaria, por lo que la designación correcta debería ser cromomicosis (3, 5, 8, 15).

1. Ecología, distribución geográfica y situación epidemiológica

La cromomicosis es una enfermedad cosmopolita que se ha descrito en todos los continentes, pero predomina en zonas tropicales y subtropicales. Es endémica en América Latina, las Antillas, Indonesia, Malasia y África. Hasta hoy se ha presentado gran cantidad de casos en Cuba, República Dominicana, Costa Rica, Puerto Rico, Colombia, Ecuador, Brasil, Bolivia, Venezuela; algunos casos aislados proceden de Perú, Argentina, Martinica, Rusia, Finlandia, República Checa, Rumania, Japón, Nigeria, Italia y Australia. En México ocupa el tercer lugar entre las micosis subcutáneas (6 %) (3-5, 8).

Existe predominio de casos en raza blanca y en sexo masculino. La mayoría pertenece a grupos de bajo nivel económico y social que viven en áreas rurales, en poblaciones que no usan zapatos rutinariamente (1-3, 5, 13, 15).

2. Etiología

Los agentes causales son hongos *Hyphomycetes* de la familia Dematiaceae. Son saprófitos, habitan en el suelo, vegetales, plantas e incluso en madera transportada a otros sitios diferentes al lugar de origen. Estos hongos se comportan como dimorfos ya que se presentan en forma micelial en el medio ambiente y en los medios de cultivo, y en su fase parasitaria, como células fumagoides. En su fase parasitaria estos hongos se multiplican en los tejidos por facetación, no producen esporulación ni formación de yemas (4, 5, 15).

Los tres más importantes son: *Fonsecaea pedrosoi*, *Phialophora verrucosa* y *Cladophialophora carrionii*. En los países latinoamericanos las especies más frecuentes son: *Fonsecaea pedrosoi* en áreas endémicas de ambiente tropical y subtropical húmedo y *Cladophialophora carrionii* en climas secos de vegetación xerófila. *Fonsecaea pedrosoi* es el más frecuentemente aislado en México (95 %). En Venezuela, Australia y Sudáfrica el agente causal más común es *Cladophialophora carrionii*. En Guatemala *Fonsecaea pedrosoi* es el único agente causal aislado de la cromomicosis (1-5, 8, 15).

Fonsecaea pedrosoi en su fase saprofítica o fase micelial, tiene micelio septado y diferente tipo de esporulación: cladosporium corto, rhinocladiella o acrotheca y fialófora, cuya proporción varía de una cepa a otra y depende del medio en que es cultivado. Es de crecimiento lento y su temperatura óptima es a 25°C. En el medio agar Sabouraud desarrolla una colonia negra, aterciopelada. En su fase parasítica se caracteriza por presentar células fumagoides patognomónicas de la cromoblastomicosis. Si la muestra proviene de material costroso, es posible observar micelio tabicado café pardo (1, 2, 14, 16).

3. Patogenia y aspectos clínicos

La cromomicosis se desarrolla en el sitio de un traumatismo transcutáneo que vehiculiza la fase saprofítica del hongo causal. A los 40 días aproximadamente, aparecen las lesiones con desarrollo local y extensión por contigüidad y rara vez por vía linfática o hematogena. Suele encontrarse en las extremidades inferiores en 54-84 %, en otras partes expuestas se observa en 18 % y en 2 % es diseminada; su localización en tórax o abdomen es rara (3-6, 13).

La infección avanza lentamente con el transcurso de los años, a medida que el agente etiológico sobrevive y se adapta a la condición del huésped. El hongo adquiere en los tejidos, en su vida parasitaria, estructuras multicelulares de gruesas paredes coloreadas de negro, llamadas células muriformes, cuerpos escleróticos o células fumagoides, que se dividen por facetación. Los hongos pueden estar libres en el tejido o fagocitados por macrófagos. En la dermis, las células muriformes presentes en los microabscesos formados por la reacción celular, a menudo muestran daño en su pared celular, pero los macrófagos no son capaces de destruir las células micóticas fagocitadas. Las células muriformes de *Fonsecaea pedrosoi* pueden permanecer viables por más de 18 meses, después que el tejido infectado ha sido recolectado de pacientes, demostrando la resistencia natural de estas estructuras (5, 15).

Las células muriformes son expelidas a la superficie de las lesiones por eliminación transepitelial a través de las fístulas. La observación de células con abundantes hifas se presenta poco *in vivo*, sobre todo en casos verrugosos y con gran cantidad de escamas. Este fenómeno se ha reportado en un par de casos muy crónicos (de 10-15 años de evolución), en los cuales se considera que a escala de capa córnea las células fumagoides prácticamente “germinan” formando nuevas hifas (4, 5, 13).

La lesión consiste en un absceso con tejido granulomatoso de respuesta; el granuloma y el componente supurativo consisten de linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y células de Langhans. Las lesiones que se desarrollan presentan un aspecto polimórfico pudiendo mostrar tipos nodulares, papilomatoso, colifloriforme, verruciforme, hiperqueratósico, cicatricial, en placas o combinaciones. Las lesiones antiguas se aclaran en su parte central y pueden ulcerarse. La mayoría de lesiones son solitarias o pueden estar agrupadas, evolucionan en forma moderada o severa, sin tendencia a curarse espontáneamente y pueden infectarse secundariamente, provocando linfodema y elefantiasis, evolucionando lentamente durante varios años pudiendo llegar a impedir seriamente el uso del miembro afectado y dando lugar, ocasionalmente, a carcinoma epidermoide (5, 8, 16).

Existe la posibilidad de que los factores genéticos predisponentes a padecer esta enfermedad sean antígenos de histocompatibilidad HLA-A29 (2).

4. Diagnóstico

La cromomicosis se diagnostica mediante estudios histológicos y micológicos (examen en fresco y cultivo). Además, las biopsias son sumamente útiles y permiten descartar otros padecimientos verrucosos (2, 13, 14).

En el examen histopatológico de las lesiones, se destacan la hiperplasia pseudoepiteliomatosa de la epidermis y el infiltrado linfomononuclear en la dermis; este último puede hacerse absceso y granuloma, con células gigantes (8).

En el examen micológico directo con hidróxido de potasio, se encuentran las células fumagoides, que se observan como estructuras esféricas de 4-10 μm de diámetro de color marrón, con paredes engrosadas y un septo transversal característico, que pueden aparecer solas o agrupadas, patognomónicas de la cromomicosis, aunque no indican especificidad del agente causal (4-6, 8, 15, 17).

El cultivo se realiza en agar Sabouraud y en algunos casos en Mycosel; se obtienen en siete a diez días colonias vellosas, aterciopeladas, de color verde oscuro o negro. La identificación específica es la taxonómica, identificándose los tipos, cantidad y producción de conidios (1, 4, 15).

La biopsia muestra un absceso neutrofílico y granuloma a cuerpo extraño. Los granulomas pueden presentar las estructuras micóticas pigmentadas bajo la forma de células fumagoides características. Es importante remarcar la utilidad de las biopsias en la mayoría de las lesiones de tipo verrucoso, pues aunque la imagen histológica es similar en la tuberculosis por la presencia de un verdadero granuloma tuberculoide, en esta micosis subcutánea se observan con gran facilidad las formas parasitarias (4, 5, 15).

Los anticuerpos específicos, en particular a antígenos de *Cladophialophora carrionii* y *Fonsecaea pedrosoi*, han sido correlacionados con la extensión de lesiones en pacientes crónicos. Algunos pacientes han tenido anticuerpos positivos por un año después de la terapia antimicótica. El diagnóstico de infección se puede hacer hasta un año después de terminada la terapia y puede ser detectado usando una prueba cuantitativa de ELISA, como el desarrollado por Esterre y colaboradores en el 2000 (5, 17).

El diagnóstico diferencial se debe hacer con tuberculosis verrucosa, esporotricosis, dermatitis crónica, leishmaniasis, coccidioidomicosis y micetoma (1, 4, 14-15, 17).

5. Tratamiento

El éxito terapéutico puede estar relacionado con el agente etiológico (*Cladophialophora carrionii* es más sensible que *Fonsecaea pedrosoi*), con la severidad de la enfermedad (el edema y fibrosis dérmica pueden reducir la llegada de los antimicóticos a los tejidos) y con la elección de la droga antimicótica. No existe hasta el momento un consenso ni estandarización para establecer un criterio de cura de esta micosis (5, 14).

Se han utilizado diferentes tratamientos en la enfermedad con resultados variables, no siempre satisfactorios. El fracaso de los antiguos tratamientos con base en el yoduro de potasio, timol, bismuto, arsénico, tiabendazole, sulfonas, corticoides, calciferol, penicilinas, ácido salicílico, crisarobina, fenol y podofilina han llevado a seleccionar mejor los recursos y a asociarlos a los antimicóticos de amplio espectro actuales, para proveer mejores opciones (3, 5).

a) Quimioterapia

i. 5-Fluorocitocina (5-FC): Esta es captada por las células micóticas vía enzimas permeasas de citosina y convertida, intracelularmente, primero a 5-fluorouracilo y después a monofosfato de 5-fluorodeoxiuridina (F-dUMP) y trifosfato de fluoruridina (FUTP), los cuales inhiben la síntesis del DNA y del RNA respectivamente. La 5-FC puede administrarse oral e intravenosamente (IV). La dosis oral e IV recomendada es de 100-150 mg/kg de peso al día en cuatro dosis por cuatro semanas o más. La toxicidad a la médula ósea con anemia, leucopenia y trombocitopenia son los efectos adversos más comunes y el trastorno de las enzimas hepáticas es menos frecuente. La 5-FC no se utiliza como un fármaco único debido al sinergismo demostrado con otros y para evitar el desarrollo de resistencia secundaria; ha sido usada con éxito en combinación con anfotericina B, así como en combinación con los nuevos agentes azoles. En 1991, Bolzinger trata exitosamente cuatro casos de cromomicosis causada por *Fonsecaea pedrosoi* con la asociación de 5-FC e itraconazol (3, 5, 18-21).

ii. Anfotericina B: Antimicótico de amplio espectro aislado del hongo *Streptomyces nodosus* que generalmente se utiliza como el tratamiento inicial

para micosis. Su mecanismo de acción consiste en unirse firmemente al ergosterol en la membrana celular del hongo, alterando su permeabilidad por lo que la célula pierde iones y macromoléculas y se daña irreversiblemente. Algunos esteroides se unen a la membrana celular humana, de donde resulta con probabilidad la toxicidad prominente de este fármaco. Se administra intravenosamente por infusión lenta con dextrosa al 5 % en intervalos de cuatro a seis horas en una dosis desde 0,2 mg/kg de peso al día hasta 1 mg/kg de peso al día. Fiebre, escalofríos, espasmos musculares, cefalea, náuseas, vómitos e hipotensión son reacciones inmediatas a la infusión. La insuficiencia renal es la reacción tóxica más importante y ocurre lentamente (5, 19, 20, 21).

iii. Terbinafina: Se ha dicho que la terbinafina puede ser la mejor terapia para la cromomicosis. Es un compuesto alilánico sintético que obstruye la biosíntesis de los esteroides de la célula fúngica inhibiendo la escualeno-epoxidasa provocando un déficit de ergosterol que lleva a la muerte. Se utiliza una dosis de 250 mg/día. Una tableta administrada al día por 12 semanas es más eficaz que el itraconazol. Los efectos adversos son poco comunes y consisten primariamente en trastornos gastrointestinales y cefalea. Varios autores reportan su eficacia en un amplio espectro de micosis sistémicas. Esterre y colaboradores, desde 2001 han publicado casos tratados con terbinafina, y en el 2003 un 57,1 % de pacientes que fueron tratados con terbinafina, 500 mg/día por un mínimo de 6 meses y hasta 12 meses fueron curados (18-21).

Hay que advertir que la terbinafina hasta el año 2003 no estaba aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) americana para el tratamiento de micosis sistémicas y subcutáneas. Otros que han tratado cromomicosis con itraconazol y terbinafina consideran efectiva esta combinación en pacientes con pobre respuesta a otros tratamientos (4, 5, 21).

iv. Azoles: La terapéutica de la enfermedad micótica se ha revolucionado con la introducción de azoles relativamente libres de toxicidad. Estos fármacos son compuestos sintéticos entre los que se encuentran el ketoconazol, el miconazol y el clotrimazol, además los triazoles que son itraconazol, fluconazol y voriconazol (este último está en investigación). La actividad antimicótica de estos fármacos resulta de la disminución de la síntesis de ergosterol por inhibición de las enzimas

del sistema citocromo P450. Se ha reportado una respuesta rápida al itraconazol, mencionándose una mayor sensibilidad de *Cladophialophora carrionii* que *Fonsecaea pedrosoi*. Queiroz-Telles y colaboradores y Restrepo y colaboradores reportan en 2003, éxitos con itraconazol en cromomycosis con pequeñas lesiones, respondiendo más rápidamente que en los más severos. Similar respuesta fue observada en los pacientes con formas moderadas (12, 13, 22).

Kumarasenghe y colaboradores obtuvieron en el año 2000, buena respuesta en un caso con lesiones extensas con el uso de itraconazol en dosis de 200 mg por una semana y tres semanas libres de tratamiento, por un período de seis meses, considerando que este tratamiento es efectivo y menos costoso que el itraconazol administrado diariamente (23).

La combinación de itraconazol y criocirugía también ha sido empleada con buenos resultados. Los mejores resultados se obtienen con el uso de itraconazol en dosis altas, de 100-400 mg/día, el ketoconazol en dosis de 200-600 mg/día, el fluconazol administración oral e IV en dosis de 100-800 mg/día. Como grupo, los azoles son relativamente no tóxicos, las reacciones adversas más comunes son trastornos gastrointestinales menores y hepatitis clínica, principalmente por el itraconazol (12, 20, 21).

Queiroz-Telles afirma que en el futuro, las nuevas drogas antifúngicas triazólicas en desarrollo pueden desempeñar un papel importante en el tratamiento de la cromomycosis ya que los hongos dematiáceos son muy sensibles a los nuevos triazoles (Posaconazol y Voriconazol). Los resultados publicados hasta la fecha sugieren que estos nuevos agentes tienen una actividad de gran espectro *in vitro*; su efectividad en el tratamiento de las micosis humanas todavía no ha sido determinada (22).

b) Otras alternativas: La electrocoagulación, disecación, nitrógeno líquido, radiación, iontoforesis, calor local (42-50°C), láser de CO₂, también se han usado en lesiones pequeñas, localizadas y como complemento del tratamiento sistémico. La cromomycosis ha sido tratada con calor local intenso, como los casos causados por *Fonsecaea pedrosoi* tratados exitosamente por Yanase y colaboradores (citado en 22) y Kimbara y Tagami en 1984 (citado en 24).

Queiroz-Telles (2003) también afirma que el uso del calor local es ideal para el manejo de las lesiones pequeñas (formas benignas) (22).

La criocirugía con nitrógeno líquido ha sido exitosa en 11 casos reportados por Pimentel en el año 2001, en pacientes infectados por *Fonsecaea pedrosoi*. Similares resultados han sido reportados antes y después por otros autores. Sin embargo, Castro (2003) demuestra que temperaturas tan bajas como -190°C , a las que se llega con el nitrógeno líquido, no matan al hongo como se creía y que éstos pueden recuperarse viables de las lesiones tratadas con este procedimiento hasta después de 12 días de terminado el tratamiento (3-5, 13, 24).

En cuanto a los pacientes con lesiones exuberantes, la exéresis quirúrgica combinada con un agente antimicótico, parece ser el tratamiento de elección como se evidencia en el caso presentado por Moreira y colaboradores (2005) de una cromomicosis verrucosa extensa, de larga evolución, en el que se administró ketoconazol oral. No obstante, cuando la enfermedad es extensa, los tratamientos pueden no resultar exitosos y en algunos casos se ha requerido amputación de un miembro (3-5, 13).

Se puede concluir que el tratamiento de la cromomicosis continúa siendo un reto y debe ser seleccionado para cada caso en particular.

B. Medicina Tradicional

Con la aparición de los productos sintéticos, los productos de origen vegetal pasaron a un segundo plano, hasta que, en las últimas décadas, el retorno hacia el uso de los productos de origen natural en terapéuticas se ha visto favorecido por un mayor conocimiento de las propiedades de los productos naturales, el desarrollo de nuevas formas para su preparación y administración, además del descubrimiento de graves efectos secundarios en fármacos de síntesis. Actualmente, existe una base científica que apoya la eficacia en muchos productos fitoterapéuticos para determinadas indicaciones (25-27).

1. Etnobotánica y Etnofarmacología

La etnobotánica se define como el estudio de las relaciones recíprocas entre el hombre y la vegetación, aunque también se vincula con el estudio del uso de las plantas en las sociedades tradicionales. Es el aprovechamiento de los recursos naturales por parte de las poblaciones locales, tanto nativas como de una determinada región. Comprende la colecta, documentación y preservación de la cultura popular relacionada con las plantas que curan y las prácticas medicinales, agrícolas y holísticas involucradas (28-31).

La etnofarmacología es el estudio interdisciplinario y científico de la serie completa de sustancias naturales, de origen vegetal, animal o mineral y las formas relacionadas del conocimiento o práctica implementada por la cultura vernácula, para modificar las condiciones de los organismos vivos, con propósitos terapéuticos o preventivos (28, 30).

2. Fitoterapia

La fitoterapia es la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica (26, 31).

La base de los medicamentos fitoterapéuticos son las drogas vegetales y los diferentes tipos de productos que de ellas se obtienen. Los principios activos son las sustancias responsables de la acción farmacológica. La fitoterapia utiliza, por tanto, drogas vegetales, extractos de dichas drogas o sustancias activas aislados de las mismas. Estos productos deben ser convenientemente preparados, dándoles la forma farmacéutica más adecuada para su administración al paciente. La eficacia se consigue solo con el uso adecuado de los preparados fitoterapéuticos, tanto en lo que se refiere a las indicaciones como a la forma de administración (26, 30-32).

Al igual que en todos los medicamentos, en los preparados fitoterapéuticos es necesario garantizar su calidad, seguridad y eficacia. La estandarización de estos productos medicinales mediante bioensayos y pruebas fisicoquímicas, provee confiabilidad en su uso (26, 30-32).

a) Fitoterapia en Guatemala: las plantas constituyen la herramienta principal para la práctica de la medicina natural. Existe un inventario nacional con alrededor de 1,400 plantas medicinales reportadas, con información recabada en la mayor parte de departamentos de Guatemala por el Instituto Indigenista Nacional (IIN), el Centro Mesoamericano de Estudios sobre Tecnología Apropiable (CEMAT), Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA), Facultad de Agronomía de la USAC (FAUSAC) y Centro de Estudios Conservacionistas (CECON). De estas plantas medicinales, se comercializan alrededor de 200 (30, 31).

Gaitán y colaboradores establecieron, en el año 2004, un método para evaluar la actividad antifúngica de extractos de plantas usadas popularmente para el tratamiento de afecciones dérmicas sobre cepas de dos hongos subcutáneos (*Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*). Enfrentaron los dos hongos contra 17 extractos etanólicos de 12 plantas nativas guatemaltecas, obteniéndose una actividad antifúngica con *Lippia graveolens* (25 µg/mL) y *Valeriana prionophylla* (100 µg/mL) para *Sporothrix schenckii*; y para *Fonsecaea pedrosoi* con *Lippia graveolens* (100 µg/mL) (7, 33-35).

En el 2003, el proyecto de la Organización de Estados Americanos (OEA): Aprovechamiento de la Flora Regional como Fuente de Fármacos Anticáncer, Antiparasitario y Antifúngico realizó ensayos con nueve extractos de plantas nativas guatemaltecas contra *Fonsecaea pedrosoi*, pero ninguno demostró actividad. En el 2004, dentro del mismo proyecto se ensayaron 12 plantas nativas contra *Fonsecaea pedrosoi*, de las cuales dos extractos demostraron actividad interesante (*Plumeria rubra* y *Tecoma stans*) (36).

C. Leguminosas

Anteriormente formaban la familia Leguminosae, pero actualmente se encuentran agrupadas en el Orden Fabales y poseen características morfológicas similares. Se clasifican en tres familias: Caesalpiniaceae (12 géneros y 34 especies), Mimosaceae (12 géneros y 35 especies) y Fabaceae (41 géneros y 99 especies). Presentan distribución cosmopolita y poseen una gama variada de formas biológicas, desde enredaderas y herbáceas hasta arbustos y árboles. Son utilizadas popularmente como forraje, fuente de carbón, elaboración de artesanías, etc. Además, son de gran

importancia para la fitoterapia, ya que algunas han reportado actividad antimicrobiana y antifúngica (28, 31, 32, 37-40).

1. Monografías de las plantas del estudio

a) *Cassia grandis* L. (*Cathartocarpus grandis* (L.) Pers.)

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombre común: Cañandonga, Caña fístula (Petén), Caragua, Mucut, Carao.

iii. Distribución: Nativa de Centro América, el Caribe y Norte de Sudamérica.

iv. Descripción: Árbol de 10-18 m de altura (hasta 30 m) y 45-80 cm (hasta 100 m) de diámetro. Su tronco es cilíndrico y ramifica a media altura, lo que produce una copa irregular, redondeada o esparcida con ramas colgantes. Corteza gruesa y lisa, de color gris parduzco. Hojas compuestas de 50 cm de largo, alternas, con un número par (8-20) de hojuelas grandes y redondeadas, de 2-5 cm de largo, con envés tomentoso. Las flores rosadas en racimos de 10-20 cm de largo, grandes y vistosas son un rasgo distintivo de esta especie, con 15 o más flores cada uno. El fruto son vainas grandes, rojizas, marrones o negras de hasta 75 cm de largo. Contienen tabiques internos con una semilla negra y plana entre cada dos tabiques. La semilla está cubierta de una pulpa dulce café o negra (38, 39).

v. Usos medicinales: La decocción de hojas, fruto y corteza es usada para el tratamiento de anemia, hemorragia nasal, enfermedades hepáticas, infección urinaria, histeria, resfrío y tos. Por vía tópica se aplican como ungüento las hojas para tratar afecciones dermatomucosas, ya que a las hojas y el fruto se les atribuyen propiedades antifúngicas, antisépticas, astringentes y depurativas. De la raíz se extrae un líquido antiséptico utilizado para la curación de heridas y la corteza es utilizada como cicatrizante (38-42).

b) *Diphysa robinoides* Benth

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombre común: Guachipilín; Palo Amarillo; Much.

iii. Hábitat: Bosque húmedo o seco, frecuente en colinas abiertas o en lugares rocosos.

iv. Distribución: crece en Alta y Baja Verapaz, Chiquimulilla, Jutiapa, Sacatepéquez, Retalhuleu, Quetzaltenango, San Marcos, Quiché, Huehuetenango, el Sur de México y desde El Salvador hasta Panamá.

v. Descripción: árbol de 5-9 m de altura, pero se encuentran hasta de 23 m de altura con un tronco delgado y ramas glabras, con 9-15 hojas ovales de 1,5-3,5 cm de largo. Ramas de 4-7 cm de longitud, poco floreadas. El fruto con folíolos abultados, vainas reticuladas de 6-11 cm de longitud y 2 cm de ancho. Las semillas son café claro de 6 mm de largo y 3 mm de ancho (38).

vi. Usos medicinales: los Mayas la empleaban en sus ritos como remedio para los dolores generales del cuerpo aplicando el jugo obtenido de la planta, su cocimiento ayuda a curar las enfermedades venéreas. Se ha usado para tratar la úlcera del chiclero y es efectivo en el tratamiento de disentería. La hoja es de ayuda para enfermedades como el asma, abscesos de la glándula mamaria, dolor de huesos, enfermedad de las amígdalas y como anticonvulsivo. La corteza y las hojas están indicadas para uso tópico en el tratamiento de llagas, úlceras e infecciones dermatomucosas. Existen algunas especies de *Diphysa*, entre éstas *Diphysa robinoides*, y *Diphysa carthagenensis*, que son usadas en forma similar por la población y a las que se les atribuyen propiedades sudoríficas y cicatrizantes (44-48).

c) *Hymenaea courbaril* L.

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombre común: Guapinol, Copinol, Palo Colorado, Pac, Pacay (Petén), Pacoj (Alta Verapaz), Hoja de Cuchillo (Jutiapa), Locust (Belice), Árbol de Pinole, Algarrobo (Colombia).

iii. Hábitat: Originaria de florestas secas y húmedas, cerros, riberas de ríos y laderas de montañas.

iv. Distribución: Sureste de México, América Central, norte de Brasil, Bolivia y Perú. En el país se encuentra principalmente en laderas o planicies secas, en Alta Verapaz, Baja Verapaz, El Progreso, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Izabal, Jutiapa, Petén, Quetzaltenango, Retalhuleu, San Marcos y Santa Rosa.

v. Descripción: árbol hasta de 30 m de alto. Tronco de 2 m de ancho. La corteza es delgada, color pardo cenizo. Las hojas son compuestas, semideciduas, alternas, con un par de folíolos (ovados, oblicuos, gruesos y coriáceos),

dispuestas en espiral. Las flores son pocas o numerosas, blancas, grandes, olorosas en panículos densos, los pedicelos cortos y gruesos. El fruto es una vaina áspera, café obscura de 10-15 cm de largo, dura, con dos o más semillas aplanadas, rodeadas de una pulpa pulverulenta, el polvo es dulce y comestible, el fruto es de 5-15 cm de largo, 3,8-5,0 cm de ancho y 2,5 cm de grosor (38).

vi. Usos Medicinales: la corteza y un poco de canela en decocción es tomada como expectorante. El cocimiento de la corteza se recomienda en casos de diarrea y disentería, es vermífugo y vermicida, se usa para desórdenes hepáticos, es purgante y actúa como sedante. La resina se quema y se aspira el humo para asma y catarro. La tintura preparada con la resina es muy buena para curar úlceras y heridas. El cocimiento de la fruta se usa como remedio para hipertensión y reumatismo, fiebre y escalofríos. El puré o pasta del polvo inmaduro de la fruta es aplicado en quemaduras. El agua de la corteza es utilizada para tratar los riñones (45, 46, 48, 49).

d) *Phaseolus lunatus* L.

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombres comunes: Frijol caballero, frijolillo, frijol cimarrón, frijol de Lima, frijol Chilipuca, Chilipuco, Frijol Reina, Frijol mantequilla, judía Limeña, frijol vítrea, Frijol de media luna, Piloy, Jurón de venados, Frijol de monte.

iii. Hábitat: Bosques semicaducos mesófilos.

iv. Distribución: Se considera nativa de Suramérica y Centroamérica.

v. Descripción: Es una hierba anual, bianual o perenne, erecta, ascendente o casi postrada, a veces trepadora, fina y en ocasiones ramificada. Raíces perennes por las que la planta puede crecer en la siguiente temporada; fibrosas y tuberosas, muy penetrantes pueden engrosar mucho; tallos glabros de 0,5-4,0 m de largo, según el hábito de la planta; hojas trifoliadas, folíolos ovados a deltoides, a veces romboide-ovados, ápice deltoide, base redondeada, 6-8 x 4-6 cm, glabros o esparcidamente pubescentes, pecíolos más largos que el foliolo central, estípulas pequeñas pero evidentes de 0,5-1,0 mm de largo, persistentes; inflorescencia axilar o lateral, en pseudoracimos cortos o alargados, de hasta 25 cm de largo. Flores con estandarte verde por contener clorofila, alas y quillas blancas, lilas o púrpuras, de 1,5 cm de largo. Cáliz campanulado, 2-3 mm de largo, estandarte ancho y plano, 1 cm de largo, puberulento por fuera, quilla espiralaza. Corola lila,

rosada o violeta, blanca en las cultivadas; estandarte de 6,5-7,0 mm de longitud, oblongo u orbicular, ancho, plano, seríceo-pubescente en la cara externa. Estambres diadelfos, el vexilar con un apéndice globoso en la base. Legumbre de 30-80×15-20 mm, con dos a cuatro semillas, oblonga, ancha, péndula, falcada, aplanada y comprimida, algo túrgida alrededor de la semilla, no rostrada, dehiscente, valvas finas, subcoriáceas, de glabra a ligeramente pubescente. Semillas 2-4, 6-10 × 5-9 mm, oblongas, de reniformes a orbiculares, comprimidas, de pardo-oscuros a negras, con manchas negras, con líneas radiales, con germinación epigea. Poseen altos niveles del glucósido linamarina (38, 49).

vi. Usos Medicinales: El zumo de la hoja se usa en instilación nasal contra la cefalea y otitis. Durante mucho tiempo se creyó que la raíz de esta planta era venenosa, y se le atribuyeron síntomas observados en niños, tales como vértigo, mareos, vómitos, hemorragias, hipertermia y aceleración del pulso; pero ensayos de laboratorio no han confirmado su toxicidad. Las semillas se utilizan en la medicina local en forma de polvo sobre las incisiones que se hacen en tumores y abscesos para provocar la supuración (33, 38).

e) *Phaseolus vulgaris* L.

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombres comunes: judía, frijol, frijol común, frijol negro.

iii. Hábitat: Bosques semicaducos mesófilos degradados, matorrales secundarios, sobre calizas y suelo húmedo.

iv. Distribución: Nativa de Centroamérica, área tropical. Se cultiva en casi todos los países del mundo.

v. Descripción: Es una planta herbácea anual o raramente plurianual, trepadora o erecta con una altura de 50-70 cm; raíz fibrosa bien desarrollada, con una raíz principal pivotante y muchas raíces secundarias ramificadas cercanas de la superficie. Sus hojas miden 2,5-5,0 mm, compuestas por tres folíolos de forma ovalada o romboide, algunas veces cubiertas de vellosidades. Tiene tallos delgados y débiles, cuadrangulares, a veces rayados de púrpura. Flores asimétricas de 15 mm de longitud, blancas o púrpura. Corola de color blanco, amarillento o azulado-purpúreo; alas de 15 mm de longitud, obovadas. Estambres diadelfos, ovario hírtulo; estigma introrso. Su fruto es una legumbre lineal de 60-

83 × 5-10 mm, con 5-10 semillas, estrecha, péndula. Semillas de 3,5-11,0 × 2,5-5,5 mm, subglobosas a oblongas, reniformes, variadamente coloreadas, pardo-oscuros, grises o negras, con manchas negras; hilo ovado, corto y central; germinación epigea (38, 49).

vi. Usos medicinales: las vainas y hojas son utilizadas como diuréticos, ligeramente hipolipemiente e hipoglucemiante. Se ha encontrado que *Phaseolus vulgaris* es dermatica, reepitelizante y cicatrizante y que se emplea sobre heridas y piel en mal estado (38, 49, 50).

f) *Senna occidentalis* L. (*Cassia occidentalis* L.)

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombre común: Frijolillo, Bricho, Habilla, Comida de murciélago, Cimarrón, Escapacle, Furrusca, Hediondío, Moquillo.

iii. Hábitat: Crece en bosques secos, semisecos y húmedos. Es común en lugares abandonados de los trópicos y subtropicos.

iv. Distribución: nativa de Centro y Sur América, pero se cultiva desde el sudeste de los Estados Unidos, Antillas, México, Centroamérica, parte tropical de América del Sur y trópicos del viejo mundo. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Chiquimula, El Progreso, Escuintla, Guatemala, Izabal, Jutiapa, Petén, Retalhuleu y Zacapa.

v. Descripción: Hierba anual o perenne, de 1 m o más de alto, pecíolo con glándulas en la base. Foliolos de 4-6 pares ovalado-lanceolados, agudos o acuminados, 3-7 cm; hojas de 10-30 cm de largo; racimos axilares, sépalos de 6-9 mm. Flores con pétalos de 2 cm, amarillos. Fruto en vaina café oscuro, lineal, plano, 6-12 cm de largo, 6-9 mm de ancho. Semillas ovales, café olivo de 3-4 mm de largo (38).

vi. Usos Medicinales: La decocción o infusión de hojas o raíz se usa oralmente para tratar afecciones gastrointestinales (diarrea, dolor de estómago y estreñimiento) y respiratorias (catarro, cefalea, fiebre, gripe, resfrío y tos), fiebre amarilla, gonorrea, ictericia, problemas renales y reumatismo. La maceración de hojas se usa tópicamente para tratar afecciones de la piel (úlceras, heridas, eczemas, empeines, erupciones, inflamaciones, salpullido, barros, granos, exantema, tiña, dermatofitosis, varicela) y tumores inflamados. La decocción de semillas se usa para tratar afecciones del riñón y vejiga, nervios, calmante

cardíaco, palpitaciones, hipertensión, gastralgia y afecciones hepáticas; se les atribuye propiedad antiinflamatoria, diurética, estomáquica, febrífuga, purgante, tónica y vulneraria. Los extractos bencénico y etéreo de hojas, raíz y semillas son activos contra bacterias patógenas (*Escherichia coli*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*); el extracto etanólico de vainas es activo contra bacterias Gram positivo. El extracto alcohólico es activo contra dermatofitos (*Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *algodonosa*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *granulare*, *Trichophyton rubrum*); Gonçalves y colaboradores demostraron que la Cassilisina aislada de *Cassia excelsa* en 1958 posee actividad contra *Candida albicans*. En otro estudio se demostró que las semillas son activas contra *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*. La planta entera posee actividad antiinflamatoria y antihepatotóxica; las hojas y tallos tienen propiedad hipotensora. El extracto etanólico de las hojas protege significativamente contra el daño hepático experimental producido por tetracloruro de carbono y thioacetamida (31, 38, 39, 40, 43, 51).

g) *Vicia faba* L.

i. Familia: Fabaceae.

ii. Nombre común: Haba, haba verde

iii. Distribución: se cultiva en zonas frías y templadas de América. En Guatemala se cultiva en Chimaltenango y el Altiplano.

iv. Descripción: Planta herbácea anual, de tallos erectos, cultivada en todo el mundo por sus semillas, empleadas en gastronomía. Planta robusta que desarrolla follaje abundante. El haba tiene porte recto y erguido, con tallos fuertes y angulosos de hasta 1,6 m de altura. Muestra hojas alternas de color verde, paripinnadas y compuestas, con folíolos anchos de forma ovalada. Las flores se presentan en racimos de dos a ocho, axilares las cuales son fragantes y grandes, alcanzando los 4 cm con pétalos blancos manchados de violeta, púrpura o negro. Son hermafroditas, y la planta es capaz de autopolinizarse. Los frutos poseen una vaina alargada de longitud variable que puede alcanzar hasta más de 35 cm y consistencia carnosa, dentro de la que se ubican las semillas puestas en fila. La vaina, de color verde en estado inmaduro, se oscurece y se vuelve pubescente al secarse. Los granos en el interior de la misma varían entre

dos y nueve. Estos granos son reniformes, de color verde claro, amarillento o grisáceo. La raíz del haba crece en profundidad hasta alcanzar un largo similar al del tallo de la planta (38).

v. Usos Medicinales: Es diurética y tiene propiedades depurativas, la maceración de la hoja es usada para golpes, contusiones y problemas de la piel (38).

IV. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala, el clima tropical, las condiciones de vida y el trabajo de los habitantes del área rural favorecen las enfermedades de piel y mucosas. Por esta razón, las micosis subcutáneas tales como la cromomicosis son procesos frecuentes.

Aunque parecieran estar disponibles muchas drogas para el tratamiento de micosis subcutáneas, hay de hecho un número limitado de drogas antifúngicas eficaces. Estas suelen presentar efectos colaterales indeseables, como tromboflebitis, fiebre, anorexia, cefaleas y náuseas, entre otros, o bien ser muy tóxicas; algunas son fungistáticas y no fungicidas (azoles) y otros como la 5-FC desarrollan resistencia.

Por lo tanto, la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento es importante ya que se necesita una sustancia activa que reduzca al máximo los efectos secundarios producidos por el prolongado tratamiento convencional y que sea seguro y efectivo.

El conocimiento de la diversidad vegetal y el arraigo cultural de Guatemala puede servir de base para el planteamiento de opciones terapéuticas que puedan contrarrestar la cromomicosis con insumos generados localmente, considerando a las plantas como fuente de sustancias antimicrobianas.

Las preparaciones vegetales usadas en Guatemala como tratamiento para micosis son aplicadas empíricamente, lo que hace necesario contar con una base científica y evidencias precisas y exactas de su actividad antifúngica que validen su uso popular.

Por esta razón, en el presente estudio se evaluó la actividad *in vitro* contra *Fonsecaea pedrosoi* de los extractos etanólicos de siete especies leguminosas nativas guatemaltecas seleccionadas en base a su uso popular contra enfermedades de la piel y mucosas, según su disponibilidad y tiempo ideal de recolección y cuya actividad contra *Fonsecaea pedrosoi* no había sido estudiada previamente.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Demostrar la bioactividad antifúngica de siete extractos vegetales contra el hongo *Fonsecaea pedrosoi*.

B. Objetivos específicos

1. Aplicar el bioensayo para evaluar la actividad antifúngica de los extractos de las siete especies de leguminosas seleccionadas: *Cassia grandis*, *Diphysa robinoides*, *Hymenaea courbaril*, *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus vulgaris*, *Senna occidentalis* y *Vicia faba*.
2. Determinar la concentración inhibitoria mínima de los extractos con actividad positiva.

VI. HIPÓTESIS

Por lo menos uno de los extractos de las siete especies nativas guatemaltecas estudiadas posee actividad antifúngica *in vitro* contra *Fonsecaea pedrosoi*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo y Muestra

1. Universo de trabajo

El universo de trabajo fueron las plantas leguminosas guatemaltecas cuyo uso popular para tratar afecciones dermatomucosas ha sido documentado en una base de datos.

2. Muestra

Extractos etanólicos de siete plantas leguminosas nativas guatemaltecas consideradas como medicinales, seleccionadas en base a su uso popular contra enfermedades de la piel y mucosas, según su disponibilidad y tiempo ideal de recolección cuya actividad antifúngica no había sido estudiada previamente.

Las plantas estudiadas fueron: *Cassia grandis* (hoja), *Diphysa robinoides* (hoja), *Hymenaea courbaril* (hoja), *Phaseolus lunatus* (semilla), *Phaseolus vulgaris* (hoja) *Senna occidentalis* (hoja) y *Vicia faba* (hoja).

Una cepa de *Fonsecaea pedrosoi* obtenida de un aislamiento realizado en el Hospital General San Juan de Dios.

B. Recursos Humanos

1. Investigador

Br. Ana Beatriz Suárez Díaz.

2. Asesores

Lic. Armando Cáceres, QB.

MA. Ana Margarita Paz de Ramírez, QB.

C. Materiales

1. Equipo

- a) Autoclave Omron con control manual de temperatura (110-127°C), presión (0-4 kgf/cm²) y cronómetro (1-60 min).
- b) Balanza analítica Mettler AE200 de un plato con cabina de vidrio.
- c) Balanza analítica Mettler PM600 de un plato.
- d) Cabina de bioseguridad Clase II, Labconco con luz UV-Visible.
- e) Estufa Corning con agitador (velocidades 1-7) y calentamiento (1-7).
- f) Evaporador giratorio con colector Brinckman. Marca Bruchii.
- g) Incubadora Precision con control manual de temperatura y parrillas metálicas. Temperatura utilizada: 37°C.
- h) Incubadora con controles y pantalla digitales, con parrillas metálicas. Marca Fisher Scientific. Temperatura utilizada: 37°C.
- i) Mechero de toque tipo Bunsen. Marca Hanau.
- j) Microscopio con dos oculares 10x y objetivos 20x0,40, 10x0,25 y 4x0,10 con filtro No. 45-LBD-IF, bombilla de alógeno. Marca Olympus.
- k) Pirex percoladores de 2000 mL cada uno.
- l) Refrigerador y congelador con tres parrillas en su interior. Marca Admiral Dualtemp. Temperatura de 2-10°C.
- m) Refrigerador REVCO con ocho parrillas en su interior. Temperatura de 2-10°C.
- n) Vortex MaxiMix II con control de velocidades y selección de modos (full/power/touch).

2. Reactivos

- a) Agar Sabouraud
- b) Agua desmineralizada
- c) Etanol 70 % y 95 %
- d) Medio Takashio (Agar-agar, Dextrosa, Na₂SO₄, KH₂PO₄, peptona).

3. Materiales

- a) Asa de nicromo en espátula, en L y en argolla
- b) Cajas de Petri simples
- c) Cámaras de Neubauer
- d) Campanillas de Durham
- e) Erlenmeyer con tapón de rosca de 250 mL
- f) Erlenmeyer de 500 mL
- g) Fósforos
- h) Frascos con tapón de rosca
- i) Papel parafilm
- j) Pipetas automáticas de 10-1000 μ L
- k) Probetas de 100 mL
- l) Puntas amarillas de 200 μ L
- m) Puntas azules de 1000 μ L
- n) Regla graduada en mm
- o) Tubos de vidrio con tapón de rosca de 15 mL
- p) Vasos de precipitar de 250 y 500 mL.
- q) Viales

D. Métodos

1. Obtención del extracto etanólico de las plantas

La parte de la planta utilizada se secó y homogenizó, se molió, se pesaron 200 g y se colocó en el percolador cubierta con alcohol al 95 %. Se dejó reposar tres días y se obtuvo la primera porción, ésta se concentró en rotavapor y se pasó a la desecadora para, después de ser pesado, calcular el porcentaje de rendimiento del extracto (52).

2. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos obtenidos contra *Fonsecaea pedrosoi*

Se utilizó la metodología descrita por Brancato y Golding modificada por McRae y colaboradores (53-55).

- a) Preparación de medio de cultivo (agar-planta)
 - i. Se prepararon tubos con 13,5 mL de agar Sabouraud.
 - ii. Se esterizaron en autoclave por 15 minutos a 121°C, se dejaron enfriar a 50°C y se agregó 1,5 mL del extracto de cada planta a estudiar (dilución 1:10). Se agitó.
 - iii. Se vertió en cajas de Petri estériles, dejando solidificar y se incubó a 36°C durante 24 horas para verificar esterilidad.
 - iv. Se guardó en refrigeración a 5°C hasta el momento de su uso.

- b) Preparación del inóculo
 - i. Se preparó medio Takashio (Sabouraud modificado para producción de esporas (55)) de la siguiente manera: Se disolvió en 300 mL de agua desmineralizada, 0,6 g de dextrosa, 0,3 g de sulfato de sodio (Na_2SO_4), 0,3 g de fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4), 0,3 g de peptona y 0,6 g de agar-agar. Se sirvieron 6 mL en cada tubo con tapón de rosca. Se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 121°C y se dejó solidificar con el mayor declive posible. Se incubó a 36°C durante 24 horas para verificar esterilidad.
 - ii. Se sembró en medio Takashio el hongo y se incubó a 27°C por 21 días.
 - iii. Se agregó a cada tubo 2 mL de agua destilada estéril y se desprendió el hongo con un asa de nicromo en L.
 - iv. Se trasvasó el material obtenido a viales con tapa de rosca. Se agitó dos minutos en vortex.
 - v. Se hizo un conteo de esporas en cámara de Neubauer y se llevó la suspensión a 100 esporas/UL= 1×10^5 esporas/mL (10 esporas por cuadrante) con solución salina estéril.

- c) Inoculación del hongo
 - i. Con campanillas de Durham de 5 mm de diámetro, se abrieron cuatro agujeros en las cajas con agar-planta en forma equidistante.
 - ii. Se depositó en cada agujero 30 μ L de la suspensión de esporas y se incubó a 27°C por 28 días.
 - iii. Se hicieron cuatro repeticiones. Se usó una caja con agar Sabouraud como control negativo.

- d) Lectura e interpretación de los resultados
 - i. Se midió el diámetro de la colonia del hongo en mm.
 - ii. Se calculó el porcentaje de inhibición, comparando el diámetro contra el de las cajas control.
 - iii. Se tomaron positivos los extractos que redujeron el diámetro de la colonia en un 75 % o más y como negativos aquellos cuyo crecimiento de la colonia estuvo entre 25 y 100% (53-54).

E. Diseño Estadístico

1. Tipo de estudio

Diseño experimental que utiliza estadística no paramétrica con criterio de positividad visual (crecimiento homogéneo indicó actividad negativa y ausencia de crecimiento, actividad positiva), con un diseño no probabilístico por conveniencia. La detección de la actividad anti *Fonsecaea pedrosoi* de los extractos se determinó en una concentración de 1 mg/mL.

En los casos positivos, se realizaron diluciones de 0,5, 0,25 y 0,125 mg/mL para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM).

- a) Variables
 - i. Variable independiente: Plantas leguminosas nativas guatemaltecas.
 - ii. Variable dependiente: Actividad anti *Fonsecaea pedrosoi* de los extractos etanólicos de las siete especies de leguminosas seleccionadas.

- b) Validez del método: Para determinar la validez de los ensayos se utilizó agar Sabouraud sin ningún aditivo con etanol al 50% como control negativo, el cual presentó un crecimiento óptimo del hongo. Se realizaron cuatro repeticiones del ensayo.
- c) Análisis de datos: Según la hipótesis binomial y un valor $\alpha < 0,10$ para cuatro repeticiones realizadas se pudo determinar lo siguiente:
- i. Actividad antifúngica positiva: El extracto inhibió el crecimiento del hongo en un 75 % o más respecto al control negativo (52, 53).
 - ii. Actividad antifúngica negativa: El hongo presentó un crecimiento homogéneo mayor al 25 % respecto al control negativo (52, 53).

VIII. RESULTADOS

A. Selección de las plantas y obtención de los extractos etanólicos

Se obtuvieron los extractos etanólicos de siete plantas guatemaltecas popularmente usadas para el tratamiento de afecciones mucocutáneas, según su disponibilidad en el laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología (Tabla 1). El extracto de *Senna occidentalis* fue el que obtuvo un alto porcentaje de rendimiento (15.12%).

Tabla 1
Descripción de las plantas utilizadas en el estudio

Planta (No. Herbario)	Nombre Común	Parte utilizada	% de Rendimiento ^a (en base al peso seco)
<i>Cassia grandis</i> (C1/379)	Carao, Cañandong	Hoja	9,32
<i>Diphysa robinoides</i>	Guachipilín, Palo Amarillo	Hoja	6.02
<i>Hymenaea courbaril</i> (C1/309)	Guapinol, Palo Colorado	Hoja	ND ^o
<i>Phaseolus lunatus</i>	Frijol cimarrón, Frijol de Lima	Semilla	7,40
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Frijol común	Hoja	0,10
<i>Senna occidentales</i> (C1/342)	Frijolillo, Habilla	Hoja	15,12
<i>Vicia faba</i> (F1/360)	Haba	Hoja	9.10

Fuente: ^a Laboratorio de Bioensayos, Departamento de Citohistología

^o El extracto se encontró disponible en el Laboratorio de Bioensayos, sin embargo, el porcentaje de rendimiento no se halla registrado en el mismo.

B. Evaluación de la actividad antifúngica

En el tamizaje preliminar se observó que los extractos de *Hymenaea courbaril*, *Phaseolus vulgaris* y *Senna occidentalis* presentaron actividad contra *Fonsecaea pedrosoi* a una concentración de 1 mg/mL ($p < 0,10$, correspondiente a cuatro repeticiones), mientras que los extractos de *Cassia grandis*, *Diphysa robinoides*, *Phaseolus lunatus* y *Vicia faba* fueron inactivos contra *Fonsecaea pedrosoi*, a la misma concentración (Tabla 2).

Tabla 2
Actividad Antifúngica (1 mg/mL) contra *Fonsecaea pedrosoi*

Planta	Parte Utilizada	Crecimiento (mm)	% crecimiento	% inhibición	Actividad
<i>Cassia grandis</i>	Hoja	21,5	74,8	25,2	Negativa
<i>Diphysa robinoides</i>	Hoja	8,2	25,8	74,2	Negativa
<i>Hymenaea courbaril</i>	Hoja	6,2	19,5	80,5	Positiva
<i>Phaseolus lunatus</i>	Semilla	14,5	50,4	49,6	Negativa
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Hoja	5,5	17,2	82,8	Positiva
<i>Senna occidentalis</i>	Hoja	7,1	22,2	77,8	Positiva
<i>Vicia faba</i>	Hoja	18,0	56,3	43,7	Negativa

Como se observa en la Tabla 3, se obtuvo una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 1 mg/mL para los tres extractos con actividad antifúngica positiva.

Tabla 3
Concentración Inhibitoria Mínima de los extractos con actividad positiva contra *Fonsecaea pedrosoi*

Planta	Parte Utilizada	CIM (mg/mL)
<i>Hymenaea courbaril</i>	Hoja	1,0
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Hoja	1,0
<i>Senna occidentalis</i>	Hoja	1,0

IX. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó la actividad *in vitro* de siete extractos etanólicos de leguminosas, seleccionadas todas en base a su uso popular medicinal para afecciones mucocutáneas y sin registro previo de actividad contra *Fonsecaea pedrosoi* (*Cassia grandis*, *Diphysa robinoides*, *Hymenaea courbaril*, *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus vulgaris*, *Senna occidentalis* y *Vicia faba*). Los resultados muestran tres extractos con actividad contra esta especie: *Hymenaea courbaril*, *Phaseolus vulgaris* y *Senna occidentalis* (Tabla 2).

De las siete plantas estudiadas, el extracto de *Senna occidentalis* tuvo un mayor porcentaje de rendimiento (15,12%), lo que evidencia que con poca materia prima es posible obtener una cantidad de extracto mayor que las demás, dándole un beneficio adicional suficiente producción en el momento de su preparación (Tabla 1).

Se demostró que *Senna occidentalis* posee actividad *in vitro* contra *Fonsecaea pedrosoi*, esto, considerado en forma conjunta con estudios previos evidencia que es una planta con uso medicinal extenso, ya que también se le atribuyen propiedades antiinflamatorias y es activa contra bacterias patógenas (31, 43). Se conoce que la maceración de sus hojas se usa tópicamente para tratar varias afecciones de la piel, incluidas las dermatofitosis, habiéndose comprobado en estudios anteriores, que el extracto alcohólico es activo contra *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *algodonosa*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *granulare*, y *Trichophyton rubrum* y que las semillas son activas contra *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* (38, 40). A su vez, Gonçalves y colaboradores (1958) demostraron que la cassilisina aislada de *Cassia excelsa*, una especie muy cercana, posee actividad contra *Candida albicans*, por lo que era de esperarse que *Senna occidentalis* contuviera una sustancia activa contra hongos patógenos. Entre los principales componentes químicos de *Senna occidentalis* se encuentran los flavonoides, multiocenol 7-ramnósido, jacudin 7-ramnósido y biantoquinona, aunque no puede asegurarse que alguno de ellos sea el responsable de su actividad contra *Fonsecaea pedrosoi* (38, 51, 56).

Por la actividad positiva de *Hymenaea courbaril* observada en este estudio, se infiere que las hojas poseen alguna sustancia activa en contra de *Fonsecaea pedrosoi*. El uso

empírico de su corteza (la resina) y su fruto también ha dado buenos resultados en el tratamiento de úlceras y heridas. Además, el extracto de corteza posee actividad *in vitro* contra *Candida albicans*. Uno de los componentes importantes de la resina es el diterpeno ácido labran-8-beta-ol-15-oico y en la corteza se encuentran flavonoides, leucoantocianina, polifenoles y taninos (38, 48). A pesar de conocer algunos de sus componentes, las propiedades antifúngicas de *Hymenaea courbaril* han sido poco estudiadas y no se puede afirmar con exactitud el origen de su actividad contra *Fonsecaea pedrosoi*.

Phaseolus vulgaris demostró actividad contra *Fonsecaea pedrosoi*, lo que apoya su utilización como dermatológico, reepitelizante y cicatrizante (49). Johns (1994) describió el contenido aleloquímico de las semillas de esta especie como defensa química contra los herbívoros y reportó la presencia de lectinas, ácido fítico e inhibidores de la proteasa y de la alfa-amilasa, además de contener trigonelina, alantoína, aminoácidos (leucina, tirosina, arginina, lisina, triptófano, colina), inositol, trazas de heterósidos cianogénicos, glucoquinina, faseolina, flavonas, vitamina C y ácido guanidinaminovaleriánico, sin embargo no se les puede atribuir con seguridad la actividad antifúngica contra *Fonsecaea pedrosoi* observada (49).

Los resultados de este estudio apoyan el uso tradicional de estas tres plantas activas, aunque aún se desconocen los compuestos responsables de su actividad biológica. Los resultados obtenidos pueden servir como base para estudios posteriores que identifiquen la(s) sustancia(s) activas que les confieren actividad anti-*Fonsecaea pedrosoi*, sin embargo por la CIM obtenida (1 mg/mL), en este momento no son de interés farmacológico.

A pesar de que a todas las demás plantas estudiadas se les atribuye algún uso popular medicinal contra infecciones o lesiones mucocutáneas, se comprobó que el extracto de la parte utilizada no posee actividad *in vitro* contra el hongo *Fonsecaea pedrosoi* en su fase miceliar a una concentración de 1 mg/mL. Es probable que alguna actividad antifúngica pudiera evidenciarse a mayores concentraciones, pero estas serían de poco interés para su uso fitofarmacéutico.

X. CONCLUSIONES

1. Los extractos de hoja de *Hymenaea courbaril*, *Phaseolus vulgaris*, y *Senna occidentalis* poseen actividad antifúngica contra *Fonsecaea pedrosoi* a una concentración de 1 mg/mL ($p < 0,10$).
2. Los extractos de *Cassia grandis*, *Diphysa robinoides*, *Phaseolus lunatus* y *Vicia faba* no poseen actividad contra *Fonsecaea pedrosoi* a una concentración de 1 mg/mL.
3. Los extractos etanólicos de *Hymenaea courbaril*, *Phaseolus vulgaris* y *Senna occidentalis* presentaron una concentración inhibitoria mínima de 1 mg/mL frente a *Fonsecaea pedrosoi*.
4. La demostración de una actividad antifúngica a 1 mg/mL, valida el uso popular de las leguminosas *Hymenaea courbaril*, *Phaseolus vulgaris*, y *Senna occidentalis* y avala su uso directo, pero por la CIM obtenida, en este momento no son de interés farmacológico como nuevo medicamento.

XI. RECOMENDACIONES

1. Determinar las sustancias activas de las plantas que demostraron actividad antifúngica contra *Fonsecaea pedrosoi* (*Hymenaea courbaril*, *Phaseolus vulgaris* y *Senna occidentalis*) e identificar la composición molecular de estas sustancias.
2. Determinar si la actividad antifúngica contra *Fonsecaea pedrosoi* de los extractos de *Hymenaea courbaril*, *Phaseolus vulgaris* y *Senna occidentalis* sería similar en la fase parasítica, *in vivo*.
3. Continuar con los estudios de actividad antifúngica contra *Fonsecaea pedrosoi* y otros hongos causales de micosis subcutáneas evaluando otras especies de leguminosas y sus diferentes partes, utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones mucocutáneas.

XII. REFERENCIAS

1. Logemann H. Manual práctico de Micología Médica. Guatemala: Bayer de Guatemala, 1995. 227p.
2. Arenas G. Micología Médica Ilustrada. 2 Ed. McGraw-Hill Interamericana, 2003; 352pp.
3. Moreira M. *et al.* Tratamiento exitoso de un caso de cromoblastomicosis verrucosa extensa con exéresis quirúrgica asociada a uso de ketoconazol. Rev Cubana Med Trop 2005; 57(3).
4. Hinostroza DCD, Padilla MC, Novales SCJ. Cromoblastomicosis esporotricoides; Presentación de un caso. Rev Cent Dermatol Pascua 2004; 13(1):21-24.
5. Burstein Z. Cromomicosis: Clínica y Tratamiento; Situación Epidemiológica en Latinoamérica. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2004; 21(3):167-175.
6. Cavero J, Delgado V. Cromoblastomicosis por *Cladosporium* sp. Folia Dermat Peruvana 2004; 15(1):28-31.
7. Gaitán I, Del Cid NE, Logemann HE, Paz AM, Cáceres A. Establecimiento de un método para evaluar la actividad vegetal contra hongos subcutáneos (*Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*). Poster. XIII Congreso Italo-Latino Americano de Etnomedicina:PO 63; 2004.
8. Yegres N, Yegres F. La endemia de cromomicosis en Venezuela: Una estrategia para su control. VITAE Academia Biomédica Digital 2005; (24).
9. Torres C. *et al.* Determinación de la actividad antifúngica de decocciones de *Minthostachys verticillata* frente a hongos dermatofitos. Dpto. Microbiología e Inmunología, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina; 2004.

10. Cáceres A, Girón L. Desarrollo de medicamentos fitoterápicos a partir de plantas medicinales en Guatemala. *Revista de Fitoterapia* 2002; 2(1): 41-46.
11. Harshberger GJ. (In Ford RI). *Ethnobotany: History, diversity and Sintesis*. USA: Ann Arbor, University of Michigan. 1978; No.67: 48-52.
12. De la Barreda F, Arenas R, Gea M. Cromoblastomicosis de localización abdominal; Tratamiento concomitante con cirugía cardiovascular. *Enferm Infec y Micro* 2004; 24(2) p.0-0.
13. Estrada G, Arenas R, Vega E, Bonifaz A. Cromoblastomicosis. Un caso por *Fonsecaea pedrosoi* con filamentación *in vivo* y tratamiento combinado con itraconazol y criocirugía. *Dermatol Cosmet Med Quir* 2003; 1:40-45.
14. Murray P. *et al*. *Microbiología Médica*. 5 ed. España: ELSEVIER Inc. 2006. 963p.
15. Yegres J, Yegres N, Pérez M. Cromomicosis, Albornoz MC, Editor. *Temas de Micología Médica*. Caracas, 1996. p: 87-102.
16. Zacchino A, Gupta M. *Manual de Técnicas in vitro para la detección de compuestos antifúngicos*. España: Corpus Editorial y Distribuidora. 2007. 188p.
17. Lairt O. *et al*. Inmunoanálisis enzimático (ELISA) en la evolución terapéutica de la cromoblastomicosis por *Cladophialophora carrionii* en el área endémica del Estado Falcón, Venezuela. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22:39-43.
18. Physicians GenRX. *The Complete drug reference*. USA: Mosby, 1996. 2130p.
19. Goodman & Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11 ed. Colombia: McGraw Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. 2007. 2017p.
20. Katzung BG. *Farmacología básica y clínica*. 8 ed. México: El Manual Moderno, 2002. 1346p.

21. Flores J. Farmacología Humana 3ª. España: Masson S.A., 2002. 1025p.
22. Queiroz-Telles F, McGinnis MR, Salkin I, Graybill JR. Subcutaneous mycoses. *Infect Dis Clin North Am* 2003; 17(1): 59-85.
23. Kumarasenghe SP, Kumarasenghe MP. Itraconazole pulse therapy in chromoblastomycosis. *Eur J Dermatol* 2000; 10(3):220-2.
24. Tagami H, Ginoza M, Imaizumi S, Urano-Suehisa S. Successful treatment of chromoblastomycosis with topical heat therapy. *J Am Acad Dermatol* 1984; 10(4):615-19.
25. Vademécum de prescripción de plantas medicinales; Fitoterapia. 3 Ed. España: Masson, S.A., 1998. 1148p.
26. Martin GJ. Ethnobotany. England: Chapman & Hall, 1985. 289p.
27. Barrett M. The Handbook of Clinically Tested Herbal Remedies. United States of America: The Haworth Herbal Press. Vols. 2, Vol.1, 2004. 745p.
28. Pahlow M. El gran libro de las plantas medicinales. 5 ed. España: Everest. 1985. 465p.
29. Ocampo RA. Domesticación de plantas medicinales en Centroamérica. Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Serie Técnica, Doc. Tec. No. 245, 1994.
30. Cleaves C. Etnobotánica médica participativa en siete comunidades de la zona de influencia del Parque nacional Laguna Lachuá, Cobán, Alta Verapaz, Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2001. 294p.
31. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1996. 493pp.

32. Rojas R. *et al.* Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003; 88:199-204.
33. Rai M, Mares D, eds. *Plant-Derived Antimycotics*. United States of America: Haworth Press, Inc. 2003. 587p.
34. Gaitán IC. Actividad de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii*. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2005. 57p.
35. Del Cid N. Actividad de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Fonsecaea pedrosoi*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2005. 52 pp.
36. Proyecto OEA, Aprovechamiento de la Flora Regional como Fuente de Fármacos Anticáncer, Antiparasitario y Antifúngico. 2003-2004.
37. Estrada E, *et al.* Leguminosas del centro del estado de Nuevo León, México. *Anales del Instituto de Biología, UNAM, Serie Botánica*. 2004; 75(1):73-85.
38. Stanley P, Steyermark JA. Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 1946; 24(5):116, 121-122, 141-142, 245-246, 327-328, 332-335, 362.
39. Villar L. La Flora Silvestre de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos. Colección Manuales, Do. Tec. No. 6, 1998. 99p.
40. Cáceres A, *et al.* Actividad Antifúngica de plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Dirección General de Investigación –DIGI-. Universidad de San Carlos de Guatemala. Do. Tec. Cuaderno de Investigación. 7-92. 89pp.
41. Weniger B. Elementos para una farmacopea caribeña. Cuba: Seminario TRAMIL 3; Investigación científica y uso popular de plantas medicinales en el Caribe. Ministerio de Salud Pública. Enda Caribe, 1988. 318p.

42. Acosta L. *et. al.* Fundamentos de Agrotecnología de cultivo de plantas medicinales Iberoamericanas. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. 2000. 215p.
43. Figueroa C. Acción antibacteriana de extractos de leguminosas usadas en el tratamiento de diarreas. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1991. 67pp.
44. Morton JF. Atlas of Medicinal Plants of Middle America, Bahamas and Yucatán. DSC. F.L.S. USA; Springfield: Charles Thomas, 1981. 1420p.
45. Aguilar JI. Relación de unos Aspectos de la Flora Útil de Guatemala. Guatemala: Ministerio de Agricultura, 1966. 383p.
46. Cáceres A, Samayoa B. Tamizaje de la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Guatemala: DIGI, USAC. 1990. 121p.
47. Martínez M. Las Plantas Medicinales de México. 5ª. Ed. México: Botas, 1969. 619p.
48. Herrera D. Actividad anti-*Candida albicans* de extractos vegetales usados en Guatemala para el tratamiento de afecciones dermatomucosas. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1993. 44p.
49. Beyra A, Reyes G. Revisión taxonómica de los géneros *Phaseolus* y *Vigna* (Leguminosae-Papilionoideae) en Cuba. Anales del Jardín Botánico de Madrid. 2004;61(2):135-154.
50. Torres I, Quintana I. Análisis comparativo sobre el empleo de plantas medicinales en la medicina tradicional de Cuba e Islas Canarias. *Rev Cubana Plant Med*, ene.-abr. 2004, vol.9, no.1, p.0-0.

51. Gonçalves OD, *et al.* Substancias antimicrobianas de cañafístula (*Cassia excelsa* Schar) Rev. Inst. Antiv. Univ. Recife. 1958;1:23-31.
52. Cáceres A, *et. al.* Manual de Procedimientos del Proyecto Biodiversidad tropical Centroamericana (Organización de Estados Americanos -OEA-). Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos, 1999. 17p.
53. Bancrato FP, Golding NS. The diameter of the mould colony as a reliable measure of growth. J Mycol. 1983; 45:848-863.
54. Mac Rae WD, *et al.* Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. J Ethnopharmacol. 1988; 22:143-172.
55. Vanbreuseghem R, De Vroey C, Takashio M. Production of macroconidia by *Microsporium ferrugineum* OTA 1922. Sabouraudia. 1970; 7:252-256.
56. Juárez S. Determinación de actividad tóxica *in vitro* de plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1991. 50pp.

XIII. ANEXOS

Fig. 1 Lesión de Cromomicosis**Fig. 2** *Cassia grandis***Fig. 3** *Diphysa robinoides***Fig. 4** *Hymenaea courbaril*

Fig. 5 *Phaseolus lunatus*



Fig. 6 *Phaseolus vulgaris*

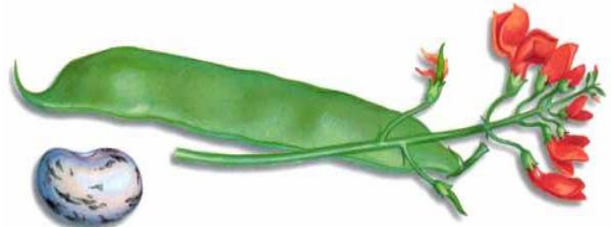


Fig. 7 *Senna occidentalis*



Fig. 8 *Vicia faba*



Fig. 9 Preparación de la planta



Fig. 10 Proceso de percolación



Fig. 11 Extracto etanólico de la planta



Fig. 12 Desecadora



Fig. 13 Esporulaci3n de *F. pedrosoi* en medio Takashio



Fig. 14 Incubaci3n de *F. pedrosoi* en agar-planta



Fig. 15 Control Negativo de *F. pedrosoi* en agar Sabouraud

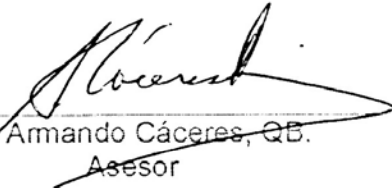


Fig. 16 Actividad de un extracto contra *F. pedrosoi*.

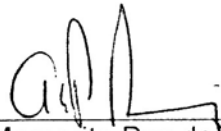




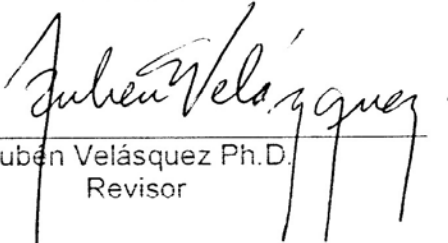
Ana Beatriz Suárez
Autora



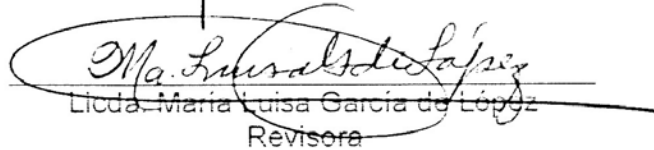
Lic. Armando Cáceres, Q.B.
Asesor



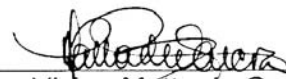
MA. Ana Margarita Paz de Ramírez, Q.B.
Asesora



Rubén Velásquez Ph.D.
Revisor



Licda. María Luisa García de López
Revisora



Licda. Vivian Matía de García
Directora Escuela Q.B.



Oscar Cobar Pinto, Ph.D.
Decano Facultad CC. QQ y Farmacia