

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

**“Inhibición del hongo *Sporothrix schenckii* por especies
de leguminosas popularmente usadas en Guatemala para
el tratamiento de micosis”**

Ana Margarita García Sánchez

Química Bióloga

Guatemala, Marzo 2009

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

**“Inhibición del hongo *Sporothrix schenckii* por especies
de leguminosas popularmente usadas en Guatemala para
el tratamiento de micosis”**

Presentado por

Ana Margarita García Sánchez

Para optar el título de
Química Bióloga

Guatemala, Marzo 2009

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. Lilitana Vides de Urizar</i>	<i>Vocal II</i>
<i>Lic. Luis Alfredo Gálvez Sanchinelli</i>	<i>Vocal III</i>
<i>Br. Andrea Alejandra Alvarado Álvarez</i>	<i>Vocal IV</i>
<i>Br. Aníbal Rodrigo Sevillanos Cambronero</i>	<i>Vocal V</i>

ACTO QUE DEDICO A:

- **Dios**, Luz y Fuerza en mi vida y a quien debo todo lo que soy.
- **Mis padres**, quienes con esfuerzo y amor me apoyan en cada etapa de mi vida.
- **Mi país, Guatemala.**

AGRADECIMIENTOS

- **A Dios**, por colmarme de bendiciones y darme la oportunidad de culminar mi carrera con éxito.
- **A mis padres**, Mario y Lucky, por su apoyo incondicional durante mis años de estudio. Gracias por todo!
- **A mis hermanas**, Ana Cristina y Ana Lucía, por estar siempre conmigo y ayudarme cuando lo necesité. Son una gran bendición.
- **A mi esposo**, Julio, por tu paciencia, tu ayuda y por ese gran amor que llena mi vida de una manera tan especial.
- **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, 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 compartir sus conocimientos y por su paciencia en el transcurso de mi trabajo de tesis.
- **A mis amigas y colegas**, en especial a Ana Beatriz, Keila y Marlitt, gracias por su amistad, cariño y los momentos inolvidables que pasamos juntas.
- **A la Licda. Nidia Alonzo**, por su gran ayuda y comprensión, durante la culminación de mi trabajo de tesis.
- **A toda mi familia y amigos**, por su apoyo y cariño.

INDICE

	Pág.
I. RESUMEN	6
II. INTRODUCCIÓN	8
III. ANTECEDENTES	9
A. Micosis	9
B. Micosis subcutáneas	9
C. Medicina tradicional	16
1. Etnobotánica	17
2. Fitoterapia	17
3. Fitoterapia en Guatemala	19
D. Leguminosas	19
1. Especies en estudio o materia vegetal	20
a. <i>Cassia grandis</i> L. f.	20
b. <i>Diphysa robinoides</i> Benth	21
c. <i>Hymenaea courbaril</i> L.	22
d. <i>Phaseolus lunatus</i> L.	23
e. <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	24
f. <i>Senna occidentalis</i> L.	24
g. <i>Vicia faba</i> L.	25
IV. JUSTIFICACIÓN	26
V. OBJETIVOS	28
VI. HIPÓTESIS	29
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	30
VIII. RESULTADOS	37
IX. DISCUSIÓN	39
X. CONCLUSIONES	41
XI. RECOMENDACIONES	42
XII. REFERENCIAS	43
XIII. ANEXOS	49

I. RESUMEN

Las micosis subcutáneas son producidas por hongos que penetran en la piel a través de un traumatismo y afectan principalmente a los tejidos subcutáneos, los vasos linfáticos y los tejidos vecinos. La esporotricosis es la más común de estas infecciones y es causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*, que en la naturaleza se encuentra en su forma miceliar y en el hospedero en forma de levadura.

Se pueden originar varias formas clínicas dependiendo del sitio de inoculación y de la respuesta inmune del hospedero contra el hongo. Entre ellas se encuentran la esporotricosis linfocutánea, cutánea fija, mucocutánea y extracutánea o diseminada. El diagnóstico se basa en las características clínicas de las lesiones y en análisis de laboratorio, con un examen en fresco de la lesión y cultivo como prueba confirmatoria.

El tratamiento de elección para esta enfermedad es el yoduro de potasio y la anfotericina B, medicamentos cuyos efectos adversos severos y causan daños irreversibles en algunos pacientes, sin embargo, deben ser utilizados ya que no existen productos terapéuticos menos agresivos. Por lo tanto, se están realizando estudios, especialmente en países con gran diversidad biológica, como Guatemala, que contribuyan a la detección de nuevos compuestos antifúngicos derivados de plantas medicinales con menos efectos secundarios y al alcance de toda la población.

En este estudio se determinó la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de siete plantas leguminosas contra la fase miceliar y levaduriforme de *Sporothrix schenckii*, con el fin de encontrar nuevas alternativas de tratamiento o compuestos activos para la elaboración de fármacos.

Un bioensayo fue realizado para la evaluación de los extractos de las leguminosas: *Cassia grandis* L. (Hoja), *Diphysa robinoides* Benth (Hoja), *Hymenaea courbaril* L. (Hoja), *Phaseolus lunatus* L. (Semilla), *Phaseolus vulgaris* L. (Hoja), *Senna occidentalis* L. (Hoja) y *Vicia faba* L. (Hoja).

Los extractos de *D. robinoides* y *H. courbaril* mostraron actividad positiva significativa contra la fase miceliar, siendo su concentración inhibitoria mínima 1 y 0.5 mg/dL ($p < 0.10$) respectivamente. Para la fase levaduriforme no se encontró actividad positiva.

En base a los resultados obtenidos se comprueba que dos de los extractos de las plantas estudiadas posee actividad antifúngica contra *S. schenckii* en su fase miceliar. Aunque el tratamiento requerido para las micosis subcutáneas es contra la levadura, la bioactividad de estos extractos pueden ser una alternativa que prevenga la diseminación del hongo si se aplica la preparación inmediatamente después de la inoculación.

Además, es recomendable la definición de los principios activos presentes en las plantas que demostraron actividad antifúngica contra *S. schenckii* para determinar su mecanismo de acción y encontrar blancos específicos en la célula fúngica. Así mismo, realizar otros estudios para obtener otras alternativas terapéuticas menos agresivas, a bajo costo y al alcance de toda la población guatemalteca.

II. INTRODUCCIÓN

La Etnobotánica medicinal es el conjunto de conocimientos y prácticas terapéuticas generadas en el seno de la comunidad, transmitidas generacionalmente y que basadas en un conocimiento empírico ofrecen soluciones a diversas enfermedades (1).

Desde tiempos remotos se ha utilizado como materia prima las plantas, con el fin de preparar pócimas o remedios para curar las más diversas dolencias y enfermedades. Actualmente, se han desarrollado estudios científicos en donde se identifica el principio activo que posee la planta y se desarrolla industrialmente (2).

Tomando en cuenta que la esporotricosis ocupa el primer lugar dentro de las micosis subcutáneas en población guatemalteca y que la mayoría de antimicóticos son sintéticos y producen graves efectos secundarios, es de gran importancia la validación de plantas que posean actividad antifúngica para plantear alternativas de tratamiento que estén al alcance de la población y que sirvan como modelo para la elaboración de medicamentos sintéticos con menos efectos colaterales (3-5).

En países con gran diversidad biológica como Guatemala se realizan estudios que contribuyen a la detección de nuevos compuestos antifúngicos derivados de plantas medicinales. En la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia se han desarrollado investigaciones con resultados interesantes sobre plantas con actividad contra hongos subcutáneos. Sin embargo, la variedad de plantas a estudiar que la flora del país ofrece, hace que la búsqueda sea constante, por lo que en este estudio se evaluó la actividad contra *S. schenckii* de siete extractos etanólicos de leguminosas de uso terapéutico popular (6,7).

En el presente trabajo se demostró la bioactividad de las especies vegetales a través de técnicas de tamizaje por dilución en placa, y se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de los extractos que presentaron actividad.

II. ANTECEDENTES

A. Micosis

Las micosis varían considerablemente en sus manifestaciones, pero tienden a ser enfermedades subagudas o crónicas de curso indolente y recurrente. Los hongos rara vez causan infecciones agudas como las producidas por muchos virus y bacterias (8).

La mayoría de las infecciones fúngicas en el hombre no son contagiosas, aparecen tras un contacto con un reservorio ambiental o a partir de la microbiota de hongos del propio paciente (9).

Atendiendo al lugar y grado de afección, las micosis pueden ser divididas para su estudio en tres grandes grupos: profundas o sistémicas, subcutáneas, cutáneas y superficiales.

B. Micosis subcutáneas

Las micosis subcutáneas, son enfermedades producidas por hongos que se inoculan a través de la piel por medio de un traumatismo y afectan principalmente a los tejidos subcutáneos, los vasos linfáticos y los tejidos vecinos, raramente se propagan hacia otros órganos. Entre las micosis subcutáneas más importantes están la esporotricosis, la cromoblastomicosis y los micetomas. De ellas, sólo la esporotricosis posee un único agente etiológico específico (*S. schenckii*), a diferencia de la cromoblastomicosis causada principalmente por: *Fonsecaea pedrosoi*, *F. compactum*, *Phialophora verrucosa* y *Cladosporium carrionii* y el micetoma por los hongos: *Nocardia*, *Actinomyces* y *Streptomyces* (3, 9-11).

1. Esporotricosis

La esporotricosis es la más común de las micosis subcutáneas, caracterizada por lesiones nodulares del tejido cutáneo, subcutáneo y nódulos linfáticos con supuración y ulceración, generalmente el nódulo está delimitado, aunque puede extenderse a áreas adyacentes y rara vez se disemina. Es causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*, que en la naturaleza se

encuentra en su forma micelial y en el hospedero en forma de levadura. La esporotricosis en humanos es causada únicamente por la especie *S. schenckii*, que resultó ser idéntica a la especie causante de la enfermedad en caballos y otros animales, descrita por Caroudeau como *Sporothrix equi* (9).

Aunque la vía de entrada del hongo es generalmente por inoculación cutánea, en raras ocasiones se puede adquirir por inhalación causando una neumonitis granulomatosa con frecuencia cavitada, parecida a la tuberculosis. En estos casos puede haber diseminación hematógica con posterior localización osteoarticular, en el sistema nervioso central y/o en el aparato genitourinario. También han sido reportados cuatro casos de meningitis en pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) posterior a lesiones en la piel o una enfermedad multifocal en pacientes inmunodeprimidos, diabéticos, alcohólicos o bajo tratamiento con corticosteroides (3, 9, 12, 13).

La infección puede ser por traumatismo con diferentes materiales infectados como materiales punzo cortantes, espinas y escamas de peces (según es descrito en Guatemala), ya que existe una asociación saprofítica y se ha descrito una vía de contaminación directa con lesiones supurativas. Este hongo ha sido aislado también de pulgas, hormigas y cabello de caballo, los que representan posibles vectores de conidios (3, 9).

2. Distribución

Esta micosis es considerada como una enfermedad ocupacional que se presenta principalmente en trabajadores del campo o personas dedicadas a la jardinería, con mayor prevalencia en hombres que en mujeres. Aunque en ocasiones, el traumatismo es tan leve que el paciente no recuerda haberlo sufrido (9, 12).

La esporotricosis es la más común de las micosis subcutáneas en América Latina, Guatemala, México, Colombia y Brasil, constituyen áreas endémicas por el gran número de casos reportados y confirmados, 285 en Guatemala hasta 1995 y 304 casos en Brasil hasta el 2005 (3, 9, 13).

En Guatemala el primer caso fue descrito por Morales, posteriormente Wyss describió nueve casos, cuatro de ellos provenientes del departamento de Santa Rosa. Solórzano informó 34 casos atendidos en un hospital de la ciudad de Guatemala en 1963. En 1979 se describió la Laguna de Ayarza en Santa Rosa, como zona endémica de esporotricosis. Actualmente se conocen otros focos endémicos en las faldas del volcán Tacaná en San Marcos y en Chimaltenango. Sin embargo, se ha diagnosticado gran cantidad de casos en la ciudad capital y en otros lugares no considerados endémicos. Algunos estudios en Brasil mediante técnicas de biología molecular, han reportado otras formas inusuales de inoculación tales como picaduras de mosquito y caspas de gato (3, 9, 14-17).

3. *Sporothrix schenckii*

Es un hongo dimórfico cuya fase saprofítica crece sobre vegetación y el suelo a una temperatura promedio de 26-27°C y en condiciones de humedad entre 92-100%. Un estudio realizado en 1976 por González-Ochoa en México, reportó que la distribución estacional de casos fue de 51.4% en invierno, 23% en otoño, 17% en verano y 9% en primavera. La virulencia de las cepas aisladas de la naturaleza es menor a la de las aisladas de pacientes, por la cantidad de componente lipídico que adquieren las cepas humanas (9).

Microscópicamente presenta micelio no septado y conidióforos largos y delgados, denominados simpodios, los que dan origen a los simpodioconidios (aspecto de Margarita) (Anexo 1). A lo largo del micelio se pueden presentar conidios de forma triangular, que según estudios efectuados en el Instituto Pasteur en París, son las que le confieren cierto grado de virulencia a la cepa, además de darle el color oscuro a la misma (9).

S. schenckii es un hongo de crecimiento rápido (3-5 días). Crece adecuadamente en medio Sabouraud, la colonia es pequeña, color crema, con morfología radiada, de apariencia pastosa, que después de una semana se torna café en el centro y mas clara en la periferia, hasta adquirir un tono más oscuro, casi negro (3, 9).

La demostración del dimorfismo es importante para la identificación de *S. schenckii*. Muchos estudios han reportado que los cambios morfológicos ocurren bajo la influencia de la temperatura, de manera que el hongo puede convertirse a su fase levaduriforme o parasítica (encontrada en la lesión clínica) al sembrarse en agar infusión de cerebro y corazón (BHI) con sangre incubado a 37°C en una atmósfera de CO₂. Después de una semana de incubación, se puede observar una colonia pequeña, pastosa, de superficie irregular y de color crema (9, 10).

En muestras clínicas se pueden observar levaduras alargadas, ovaladas o ligeramente redondas. En preparaciones frescas son difíciles de ver, pero utilizando la coloración de Giemsa, las posibilidades de observarlas aumenta y se pueden detectar agrupadas, intracelulares o sueltas (es muy importante no confundir estas estructuras con amastigotes de *Leishmania*, principalmente si la muestra fue tomada de una lesión ulcerosa localizada). En muestras en fresco, se pueden visualizar los cuerpos asteroides, los cuales son levaduras con proyecciones que surgen del citoplasma de la misma, como una reacción antígeno-anticuerpo (fenómeno Splendore-Hoeplii) (8). Estas estructuras son más fáciles de ver cuando la muestra proviene de lesiones verrucosas. Los cuerpos asteroides no son patognomónicos de la esporotricosis, pero contribuyen al diagnóstico (3, 9).

4. Características clínicas

En el sitio de inoculación se forma una lesión nodular aproximadamente después de 7-15 días de haber sufrido un traumatismo. Se pueden originar varias formas clínicas, dependiendo del sitio de inoculación y de la respuesta inmune del hospedero contra el hongo (9). Entre ellas se encuentran:

a. Linfocutánea: Este tipo de esporotricosis corresponde al 75% de las formas clínicas de acuerdo a la mayoría de estudios. El hongo ingresa al cuerpo por traumatismo y se desarrolla en un promedio de tres semanas. Los primeros síntomas son el apareamiento de nódulos subcutáneos duros, pequeños y hialinos que migran a lo largo de ganglios y van cambiando de color rosado a púrpura y algunas veces a negro (lesiones gumatosas), todo esto acompañado de linfadenopatía. La lesión se extiende a la piel, necrotizándola y formando el llamado chancro esporotricoso. La lesión gumatosa inicial puede desaparecer,

pero pueden desarrollarse nuevas úlceras en algunas semanas o meses, si no es tratada adecuadamente o hay un fallo en el tratamiento, dando lugar a las formas crónicas de la enfermedad. Algunas lesiones primarias graves de este tipo de esporotricosis son tan profundas que pueden comprometer hueso y tendones, y presentar un cuadro similar a una gangrena o desencadenar una hipersensibilidad similar a la que ocurre en una sífilis tardía o al “Fenómeno de Lucio” en la lepra (3, 9).

b. Cutánea fija: Es la lesión primaria que en muchas ocasiones se limita al sitio de inoculación provocando únicamente la sensibilización contra *S. schenckii* sin infección. Esto ha sido demostrado mediante la reacción cutánea a la esporotriquina en poblaciones de zonas endémicas. El sitio de inoculación es frecuentemente en la cara, cuello y tronco. La lesión se manifiesta como ulcerosa, verrucosa, acneiforme, eritematosa o maculopapulosa sin involucrar ganglios linfáticos por lo que se mantiene fija. Este tipo de esporotricosis a menudo se resuelve espontáneamente o con tratamiento local, aunque se han descrito casos de reactivación en el transcurso de los años (9).

c. Mucocutánea: Es un tipo de esporotricosis relativamente rara que involucra las mucosas, posterior a una diseminación del hongo. En la boca, faringe o nariz la lesión es eritematosa, ulcerativa y supurativa al principio y eventualmente se convierte en granulomatosa, vegetativa o papilomatosa. La infección es acompañada de dolor, hinchazón e inflamación. Los nódulos linfáticos regionales se tornan duros y aumentados de tamaño (9, 10).

d. Esporotricosis extracutánea y diseminada: En este tipo de esporotricosis, el hongo puede diseminarse a distintos órganos y tejidos como hueso, periostio, tejido sinovial, ojos, meninges y otros sistemas principalmente en personas inmunocomprometidas o secundaria a otra enfermedad (3, 9, 12, 13).

e. Pulmonar: La infección resulta de la inhalación de los conidios. La esporotricosis pulmonar es considerada una de las mayores micosis del pulmón (9).

Existen otros tipos clínicos que no pueden encasillarse en los anteriores como el tipo acneiforme y micetomatoide entre otros poco frecuentes. Los principales síntomas son dolor punzante ocasional, ligero prurito y rara vez dolor a la palpación. Los miembros inferiores y superiores son los más afectados (3, 9).

Es importante hacer el diagnóstico diferencial con leishmaniasis, tuberculosis cutánea y cromoblastomicosis. Si las lesiones se dejan evolucionar, se puede dar pérdida de tejido y destrucción del área anatómica afectada (3, 9, 11).

5. Diagnóstico

El diagnóstico de la esporotricosis se basa en las características clínicas de las lesiones y en la historia clínica. Además, deben realizarse un análisis de laboratorio que incluye:

- a. Muestra: puede obtenerse de material purulento contenido en lesiones abiertas, costras, pústulas, nódulos cerrados o mediante una biopsia.
- b. Examen microscópico inicial:
 - Directo o en fresco: se observan cuerpos asteroides, que son levaduras con proyecciones de material mixto de Splendore-Hoepplii (Anexo 2) (8,10).
 - Coloración de Giemsa: se buscan levaduras alargadas o redondas intra o extracelulares (Anexo 3).
- c. Cultivo: Se cultiva el material purulento en agar Sabouraud con antibióticos y Sabouraud simple, incubados a 27°C durante 15 días. Después de ese tiempo son reportados como negativos si no hay crecimiento (3, 11, 18).

Las cepas de *S. schenckii* de origen humano o animal o del suelo pueden ser diagnosticadas serológicamente ya que son antigénicamente similares. La prueba cutánea de la esporotriquina consiste en la inyección intradérmica de una dilución al 1:1,000 de levaduras tratadas con calor. La reacción se considera positiva con la aparición de una induración de 5 mm después de 24 horas.

González-Ochoa y Figueroa desarrollaron una prueba cutánea utilizando únicamente polisacárido más específico para el diagnóstico de enfermedad actual, aunque otros autores no han encontrado diferencias entre ambos métodos.

En cuanto a la detección de anticuerpos, las técnicas más sensibles y específicas son las de aglutinación y las de inmunodifusión. La inmunodifusión es positiva en cualquier forma de esporotricosis extracutánea y sólo en 50% de los casos de esporotricosis cutánea y se consideran útiles tanto para el diagnóstico como para el control del tratamiento (3, 18, 19).

6. Tratamiento

a. Yoduro de Potasio (KI): Es el medicamento utilizado para la infección cutánea, administrando una solución saturada de yoduro de potasio (SSKI) oralmente 3 veces al día. El tratamiento es prolongado y se continúa por un mes después de que las lesiones de la piel han desaparecido. Su acción contra *S. schenckii* fue reportada en 1903 por Beurmann y Raymond. No se conoce con certeza el mecanismo de acción, pero se cree que su principal efecto es una estimulación de la fagocitosis, además de ser moderador de la respuesta inflamatoria. Los efectos secundarios pueden ser indigestión, exantema, lagrimeo, conjuntivitis, rinorrea, artralgias, erupciones cutáneas, problemas cardíacos o hinchazón de las glándulas salivales (3, 9, 13, 20, 21).

b. Anfotericina B: Vanderputte *et al.* aislaron y caracterizaron dos sustancias con actividad antifúngica del estreptomiceto *Streptomyces nodosus*, la anfotericina A y B. De estas, la Anfotericina B es el agente más efectivo para la esporotricosis linfocutánea, pulmonar y diseminada. Su modo de acción es por la unión al ergosterol de la célula, causando alteraciones irreversibles a grandes concentraciones. La dosis varía de 50-225 mg por día (2 mg/kg) disuelto en una solución con 5% de glucosa, administrado por vía intravenosa. Debido a su alta toxicidad, los efectos secundarios de esta droga son vómitos, dolor de cabeza, fiebre, tromboflebitis local, anemia hemolítica y particularmente nefrotoxicidad (3, 6, 9, 12, 21).

c. 5-fluorocitocina: Es un antimicótico oral de amplio espectro, fungistático. Penetra la célula fúngica por medio de la permeasa de citosina e inhibe la

síntesis del ácido ribonucleico (ARN) por acción de una desaminasa de citosina, que intracelularmente es convertida en 5-fluorouracilo y trifosfato de fluororidina que inhiben la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN) y ARN. Se administra de forma oral, intravenosa o tópica, teniendo actividad antifúngica en una dosis de 100 mg/L. Tiene acción sinérgica con la Anfotericina B, lo que permite disminuir la dosis de ésta última. Los efectos secundarios de este medicamento dependen de la dosis, y son náuseas, vómitos, enterocolitis y depresión de la médula ósea. No es recomendable su administración durante el embarazo (3, 6, 20, 22).

d. Itraconazol: Es un fungicida que tiene acción a nivel del citocromo P-450, es un compuesto triazólico de segunda generación derivado del dioxolano con un átomo de nitrógeno adicional. Se absorbe por vía oral con una vida media de 15 horas, es metabolizado en el hígado y se elimina en las heces y orina. La dosis recomendada en adultos es de una cápsula de 100 mg al día, y en niños 1-3 mg/kg de peso después de la comida. A pesar de no ser efectivo para la esporotricosis, estudios recientes han reportado su efectividad en algunos casos. No presenta toxicidad hepática, sin embargo, los principales efectos adversos son náuseas, cefalea, pirosis, disuria, alopecia y erupciones cutáneas. No debe ser utilizado durante el embarazo, ya que tiene efecto teratógeno (3, 6, 12).

Algunas de las lesiones cutáneas a menudo son sobreinfectadas por bacterias, por lo que es de utilidad el uso de antibióticos en muchos de los casos.

C. Medicina Tradicional

Las plantas han suplido a través de los tiempos, las necesidades básicas de todas las culturas como el vestuario, alimentación y medicina. Se estima que aproximadamente del 10-15% de trescientas mil especies de plantas han sido utilizadas por la medicina tradicional, en comparación con solamente el 1% de especies de plantas que se utilizan como alimento. Algunos de los medicamentos más efectivos en nuestros tiempos se originaron de plantas, tal es el caso de la aspirina, quinina, digoxina y morfina (23).

1. Etnobotánica

Es la ciencia que estudia las plantas utilizadas por pueblos primitivos y aborígenes. El tema principal de dicha disciplina es la elaboración de listados de los usos de las plantas como alimento y medicina. Para su estudio integra seis disciplinas: botánica, etnofarmacología, ecología, farmacología, economía y lingüística (24-27).

La Etnobotánica Medicinal es una especialidad de la etnobotánica que estudia el uso medicinal de la flora de una región particular o ecosistema. Comprende la colecta, documentación y preservación de la cultura popular relacionada con las plantas que curan y las prácticas medicinales, agrícolas y holísticas involucradas (27, 28).

Gran cantidad de plantas producen cientos o miles de diversos compuestos químicos con diferentes actividades biológicas, y en Guatemala como en otros países de Latinoamérica, con diversas culturas ancestrales, las plantas constituyen la herramienta principal para la práctica de la medicina natural (29, 30).

2. Fitoterapia

Es la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para atenuar o para curar un estado patológico. Existen dos tipos de fitoterapia: la popular basada en el uso de hierbas con muchas virtudes y pocos problemas en su adecuada utilización y otra, más técnica y precisa, para enfermedades más serias, que debe quedar en manos de las personas capacitadas para ejercerla sin riesgos (31).

La fitoterapia como parte de los recursos terapéuticos tradicionales, hace uso de la Etnobotánica Medicinal para utilizar, producir y comercializar los principios activos vegetales con acción farmacológica (32).

Con la aparición de los productos sintéticos, los de origen vegetal pasaron a un segundo plano, hasta que en las últimas décadas, el uso de productos naturales en terapéutica regresó favorecido por:

- El descubrimiento de graves efectos secundarios en fármacos sintéticos.
- Un mayor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus derivados.
- El desarrollo de métodos analíticos que garantizan el control de calidad.
- El aumento de la automedicación por la población.
- El alto costo de los medicamentos de síntesis.

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, ya que se puede establecer con seguridad el efecto biológico, un perfil químico o simplemente reforzar el programa de aseguramiento de la calidad en la producción y manufactura de productos medicinales comerciales (23, 32).

Estos productos con materia prima autóctona, estarían fácilmente al alcance de la población, disminuyendo la morbi-mortalidad, que la mayoría de veces depende de aspectos socioeconómicos y culturales por lo que la salud es consecuencia del equilibrio de estos aspectos (1).

Muchos estudios, especialmente en países con gran diversidad biológica, como Guatemala, han contribuido a la detección de nuevos compuestos antifúngicos derivados de plantas medicinales (6).

Actualmente, existen grandes expectativas alrededor de la utilización de productos naturales, especialmente los que comprueben ser biológicamente activos y presenten bajos efectos secundarios. Extractos de frutas, semillas, flores, bulbos y hojas de muchas plantas tropicales han exhibido alguna actividad antimicótica. La mayoría de estos son aceites volátiles conteniendo entre otras sustancias fenoles y polifenoles como principios activos (6).

Para demostrar bioactividad, las técnicas de dilución, difusión y la bioautografía de las especies vegetales se han convertido en herramientas útiles para comprobar las propiedades antifúngicas de los extractos (6).

3. Fitoterapia en Guatemala

Clasificando a las plantas en sentido estrictamente utilitario, se les puede denominar “recursos filogenéticos” y las define como los elementos vegetales que, actual o potencialmente, son útiles al hombre como satisfactores de sus necesidades vitales o porque representan nuevas fuentes de producción. Nuestros invaluable recursos fitogenéticos constituyen pues, una insustituible porción de la diversidad biológica mundial que concentra los genes que el hombre suele aprovechar para mejorar muchas de sus variedades cultivadas de plantas (33, 34).

En Guatemala, existe un inventario nacional con alrededor de 1,400 plantas medicinales reportadas, de las cuales pueden ser investigadas sus propiedades y principios activos para la elaboración de productos terapéuticos naturales, comercializándose alrededor de 200 plantas medicinales (35).

Entre las instituciones encargadas de la realización de estudios etnofarmacológicos se encuentran: La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, el Laboratorio de Productos Naturales FARMAYA S.A., el Centro de Estudios Folkloricos, la Facultad de Agronomía, el Centro Mesoamericano de Estudios sobre Tecnología Apropriada, entre otras (35).

En el año 2004, Gaitán y colaboradores establecieron un método para evaluar la actividad antifúngica de extractos de especies usadas popularmente para el tratamiento de afecciones dérmicas sobre cepas de dos hongos subcutáneos (*Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*). Utilizaron 17 extractos etanólicos de 12 plantas nativas guatemaltecas para enfrentarlas contra los dos hongos, obteniéndose actividad antifúngica con *Lippia graveolens* (25 µg/mL) y *Valeriana prionophylla* (100 µg/mL) para *Sporothrix schenckii*. (2, 4, 36, 37).

D. Leguminosas

Son un grupo de plantas llamadas así por ser especies con características morfológicas similares y porque anteriormente formaban la Familia Leguminosae.

Actualmente se encuentran agrupadas en el Orden Fabales y están constituidas en tres familias:

- Caesalpiniaceae (12 géneros y 34 especies)
- Mimosaceae (12 géneros y 35 especies)
- Fabaceae (41 géneros y 99 especies) (38)

Estas plantas presentan distribución cosmopolita y poseen una gama variada de formas biológicas, desde enredaderas y herbáceas hasta arbustos y árboles. Son utilizadas popularmente como fuente de carbón, forraje, elaboración de artesanías, entre otros usos. Además, son de gran importancia para la fitoterapia, ya que algunos géneros han reportado actividad antifúngica, antimicrobiana y otras cualidades terapéuticas (5, 29, 35-38).

1. Especies en estudio o material vegetal:

a. *Cassia grandis* L. f.

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombre común: Carao, Cañandong

iii. Sinonimia: *Cathartocarpus grandis* (L.f.) Pers.

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

v. Descripción botánica: Árbol mediano que alcanza normalmente 10-18 m de altura y 45-80 cm de diámetro, pero puede alcanzar hasta 30 m y 100 cm de diámetro. Tronco cilíndrico que ramifica a media altura para producir una copa irregular, redondeada o esparcida con ramas algo colgantes. La corteza es gruesa y lisa, de color gris parduzco. Las hojas miden unos 50 cm de largo y son compuestas, alternas, con un número par de folíolos (8-20 pares) grandes y redondeadas, de 2-5 cm de largo, con envés tomentoso. Las flores rosadas, grandes y vistosas son un rasgo distintivo de esta especie, y aparecen en racimos de 10-20 cm de largo, con 15 o más flores cada uno y a veces recubren toda la copa del árbol. Vainas grandes, rojizas, marrones o negras de hasta 75 cm de largo que necesitan un año para madurar. Contienen tabiques internos con una semilla negra y plana entre cada dos tabiques. Las semillas vienen recubiertas de una pulpa dulce de color café o negro. La legumbre es grande (55-65 cm de largo) color café oscuro, indehiscente. Tiene una

sustancia melosa color café oscuro por dentro del fruto que es dulce y un poco astringente (33, 38-40).

vi. Usos medicinales: La decocción de hojas, fruto y corteza se usa por vía oral para tratar la anemia, hemorragia nasal, enfermedades del hígado, infección urinaria, histeria, resfrío y tos. Se utiliza en la medicina popular colombiana como antisifilítica. Por vía tópica se aplica un ungüento de hojas para tratar afecciones dermatomucosas, a las hojas y el fruto se les atribuyen propiedades antifúngicas, antisépticas, astringentes, depurativas, estimulantes, expectorantes, purgantes y sedantes. De la raíz se extrae un líquido antiséptico utilizado para la curación de heridas y la corteza es utilizada como cicatrizante (39, 40).

b. *Diphysa robinoides* Benth.

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombre común: Guachipilín

iii. Distribución: Requiere para su crecimiento de un clima húmedo (3000 mm/año), cálido y se cultiva hasta 1500 msnm.

iv. Descripción botánica: La corteza es de color pardo o café claro, con un grosor de 1-2 cm con canales a lo largo del árbol. Las ramas primarias son de igual forma que el fuste y las secundarias son de color verde a gris con lenticelas. El tronco es de forma irregular desde su base hasta que se ramifica. El diámetro varía entre 30-40 cm y una altura de 7-9 m en la edad madura dependiendo de las condiciones climáticas, suelo, etc. Las hojas son alternas, imparipinnadas y caducifolias que tienen un largo que varía entre 3-13 cm, con el eje central ensanchado en la base, con 3-13 hojuelas. Esta especie es caducifolia durante la época seca y con flores durante los meses de octubre a enero. Los peciolos son de 1-2 mm de largo. Ápice agudo o redondeado, base aguda y haz verde mate. El envés es verde claro mate. Posee flores pequeñas, amariposadas, de 1,5 cm de largo por 1 cm de ancho, dispuestas en pequeños racimos axilares. Los árboles se cubren totalmente de flores amarillas después de perder las hojas entre los meses de noviembre a abril. Sus vainas son indehiscentes, oblongas, huecas e infladas de color café pálido de 4-6 cm de largo por 1-2 cm de grosor. La capa exterior es delgada y frágil. Interiormente posee un tabique central longitudinal, delgado, que contiene varias semillas

oblongas. Las vainas contienen entre 5-9 semillas color blanco crema de una longitud de 3-5 mm y un grosor de 2 mm (33, 38, 41, 42).

v. Usos medicinales: Se le atribuyen propiedades antibacterianas, antifúngicas y cicatrizantes. Por lo que la corteza y las hojas están indicadas para uso tópico en el tratamiento de llagas, úlceras e infecciones dermatomucosas (40, 41).

c. *Hymenaea courbaril* L.

i. Familia: Caesalpinaceae

ii. Nombre común: Guapinol, Algarrobo, Pacay (Petén)

iii. Distribución: Sureste de México, América Central, norte de Brasil, Bolivia y Perú.

iv. Descripción botánica: Árbol grande y robusto, subcaducifolio, de 10-25 m hasta 40 m de altura, con un diámetro hasta de 1,5 m. Copa redondeada muy densa, ampliamente extendida, con follaje denso verde claro y brillante. Hojas alternas, compuestas por un par de folíolos opuestos, de 5-10 cm de largo incluyendo el peciolo, con algunos puntos aceitosos. Tronco derecho, a veces cubierto en la base por una excreción gomosa amarillada; algunas veces desarrolla contrafuertes. Ramas gruesas ascendentes. La corteza externa es ligeramente escamosa a lisa, pardo grisácea; la interna es rosada cambiando a ligeramente parda, fibrosa, de sabor astringente, con un grosor total de 10-20 mm. Flores grandes blanco verdosas, extendidas, perfumadas, de 3,5 cm de diámetro. Se presentan en cimas densas terminales pubescentes de 10-15 cm de largo; cáliz verde crema, tubular carnoso campanulado y cinco pétalos blancos con puntos morenos, erguidos y extendidos, que apenas sobresalen del cáliz. Vaina indehiscente, ligeramente aplanada, de 10-17,5 cm de largo por 4-6,5 cm de ancho, leñosa, verdosa a moreno oscura, con pulpa harinosa, dulce y comestible, que exudan una resina pegajosa y fragante. El fruto contiene 3-4 semillas y permanece largo tiempo en el árbol (7-10 meses). Semillas oblongas achatadas, pardas y duras, de 1,5-2,5 cm de diámetro, cubiertas por una pulpa gruesa, dulce y olorosa de color amarilla. Posee un sistema radical extendido (33, 38, 42, 43).

v. Usos medicinales: La infusión de la corteza se utiliza como laxante, contra parásitos intestinales, indigestión y contra infecciones urinarias. Un linimento

de corteza y resina en polvo se usa para tratar úlceras y salpullido. La resina se quema y se aspira para tratar asma y catarro. La pulpa de la fruta es utilizada como antidiarreico. Se ha reportado su uso en enfermedades venéreas, reumatismo y estreñimiento (42, 43).

d. *Phaseolus lunatus* L.

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombre común: Frijol caballero, frijolillo, frijol cimarrón, frijol de Lima.

iii. Distribución: Bosques semicaducos mesófilos, 60-931 m. Se considera nativa de América Central, aparentemente de Guatemala.

iv. Descripción botánica: Hierbas anuales, bienales o perennes, erectas, ascendentes o casi postradas, a veces trepadoras, finas y en ocasiones ramificadas. Raíces fibrosas y tuberosas, muy penetrantes pueden engrosar mucho; tallos glabros de 0,5-4 m de largo, según el hábito de la planta; hojas trifoliadas, foliolos ovados a deltoides, base redondeada, 6-8 x 4-6 cm, peciolos más largos que el foliolo central, estípulas pequeñas pero evidentes, 0,5-1 mm de largo, persistentes; inflorescencia axilar o lateral, en pseudoracimos cortos o alargados, 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. Corola lila, rosada o violeta, blanca en las cultivadas. Estambres diadelfos, el vexilar con un apéndice globoso en la base. Legumbre de 30-80x15-20 mm, con 2-4 semillas, oblonga, ancha, péndula, aplanada y comprimida, de glabra a ligeramente pubescente. Semillas 2-4 de 6-10x5-9 mm, oblongas, de reniformes a orbiculares, comprimidas, de pardo-oscuros a negras, con manchas negras, con líneas radiales, con germinación epigea (33, 38, 45, 46).

v. Usos medicinales: El zumo de la hoja se usa en instilación nasal contra la cefalea y otitis en Congo y Senegal. Durante mucho tiempo se creyó que la raíz de esta planta era venenosa, pero ensayos de laboratorio no han confirmado su toxicidad. Los frijoles se utilizan en la medicina local en forma de polvo sobre las incisiones que se hacen en tumores y abscesos para provocar la supuración (32, 46).

e. *Phaseolus vulgaris* L.

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombre común: Judía, frijol, frijol común, frijol negro

iii. Distribución: Crece en bosques semicaducos mesófilos degradados, matorrales secundarios, sobre calizas y suelo húmedo: 60-324 m. Nativa de América Central tropical. Se cultiva en casi todos los países del mundo en centenares de cultivares, y en algunos sitios se ha naturalizado (33, 38).

iv. Descripción botánica: Es una planta herbácea anual o raramente plurianual, trepadora o erecta. Raíz fibrosa. Sus hojas, de 2,5-5 mm, compuestas por tres folíolos de forma ovalada o romboide, algunas veces cubiertos de vellosidades. Las plantas de hábito trepador tienen tallos volubles. Tiene flores asimétricas de 15 mm de longitud, de color blanco o púrpura y su fruto es una legumbre de color variable, con 3-12 semillas en su interior. Corola de color blanco, amarillento o azulado-purpúreo; alas de 15 mm de longitud, obovadas. Estambres diadelfos, ovario hirtulo; estigma introrso. Legumbre de 60-83x5-10 mm, con 5-10 semillas, linear, estrecha, péndula, a menudo recta, a veces ligeramente incurva, frecuentemente pigmentada de rojo, glabra. Semillas de 3,5-11x2,5-5,5 mm, subglobosas a oblongas, reniformes, variadamente coloreadas, pardo-oscuras, grises o negras, con manchas negras; hilo ovado, corto y central; germinación epigea (45, 46).

v. Usos medicinales: Son utilizadas las vainas y hojas como diuréticos, ligeramente hipolipemiente e hipoglucemiante (32, 40).

f. *Senna occidentalis* L.

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombre común: Frijolillo, bricho, habilla, comida de murciélago, cimarrón, escapacle, furrusca, hediondío, moquillo.

iii. Sinonimia: *Cassia occidentalis* (L.) Link., *Ditremexa occidentalis* Britton & Rose

iv. Distribución: Crece en bosques secos, semisecos y húmedos. Es común en lugares abandonados de los trópicos y subtrópicos; hasta 1400 msnm. 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 botánica: Hierba anual o perenne, 1 m o más de alto, peciolo 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 (29, 32, 33, 38).

vi. Usos medicinales: La decocción o infusión de hojas o raíz se usa oralmente para tratar afecciones gastrointestinales (diarrea, dolor de estómago, estreñimiento) y respiratorias (catarro, cefalea, fiebre, gripe, resfrío, tos), fiebre amarilla, gonorrea, ictericia, problemas renales, reumatismo, fiebre y desórdenes etnopsiquiátricos. La decocción de hojas se usa tópicamente para tratar afecciones de la piel (úlceras, heridas, eczemas, empeines, erupciones, inflamaciones, salpullido, tinea, 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; tópicamente se aplican en úlceras, tiña y cataratas. A las hojas y raíces se les atribuye propiedad antirreumática, colagoga, depurativa, espasmolítica, laxante, purgante y vermífuga; a la raíz se le atribuye propiedad sedante. A las semillas se les atribuye propiedad antiinflamatoria, diurética, estomáquica, febrífuga, purgante, tónica y vulneraria (29, 32).

g. *Vicia faba* L.

i. Familia: Fabaceae

ii. Nombre común: Haba

iii. Distribución: Es cultivada en América especialmente en zonas frías y templadas con una temperatura óptima de 15°C. En Guatemala, es cultivada en el departamento de Chimaltenango y regiones del altiplano.

iv. Descripción botánica: Planta herbácea anual, de tallos erectos, cultivada en todo el mundo por sus semillas, empleadas en gastronomía. 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 foliolos anchos de forma ovalada. Las flores se presentan en racimos de 2-8, 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. Hay que advertir que la fertilización cruzada natural es escasa, salvo en presencia de abejas. Los frutos poseen una vaina alargada de longitud variable 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 2 y 9. 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. Como otras fabáceas, los nódulos de la misma tienen la propiedad de fijar nitrógeno en el suelo; aunque hasta un 80% del mismo es consumido por la propia planta, el 20% restante mejora la fertilidad de la tierra, por lo que el cultivo se emplea en sistemas de rotación para fortalecer suelos agotados (33, 38).

v. Usos medicinales: Es un diurético y tiene propiedades depurativas (38).

IV. JUSTIFICACION

En Guatemala son comunes las enfermedades de piel y mucosas causadas por hongos ya que se ven favorecidas por el clima tropical de la región y el riesgo ocupacional. Las micosis subcutáneas son frecuentes y sin embargo, existen pocos tratamientos químicos para combatir las y ningún tratamiento natural ha sido validado apropiadamente.

La diversidad biológica y cultural de Guatemala plantea opciones terapéuticas de fácil acceso a la población y permite la utilización de los recursos naturales en el tratamiento de estas enfermedades. Por lo tanto es factible pensar que se puedan encontrar plantas con principios activos eficaces contra micosis subcutáneas, ampliando así las opciones de tratamiento. La importancia de encontrar nuevas opciones radica en la dificultad para combatir micosis como la esporotricosis y en que en Guatemala existen varias zonas endémicas para esta enfermedad como la Laguna de Ayarza en Santa Rosa, Jalapa, faldas del volcán Tacaná en San Marcos, los departamentos de Chimaltenango y un reporte considerable de casos en la ciudad capital.

Es necesaria la validación científica, mediante bioensayos, del uso popular de especies de plantas utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones mucocutáneas y probablemente activas contra *S. schenckii*, tomando en cuenta la biodiversidad y las características y propiedades de las mismas.

V. OBJETIVOS

A. General

1. Demostrar la bioactividad antifúngica de extractos vegetales contra la fase micelial y levaduriforme de *S. schenckii*.

B. Específicos

1. Obtener extractos etanólicos de especies de leguminosas y su porcentaje de rendimiento.
2. Evaluar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos a través de la determinación del porcentaje de inhibición de crecimiento.
3. Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos activos contra *S. schenckii*.

VI. HIPOTESIS

Al menos uno de los extractos de las especies estudiadas, posee actividad antifúngica *in vitro* contra el hongo *S. schenckii* en cualquiera de sus fases.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de Trabajo

El universo de trabajo fueron aislamientos de *S. schenckii* proporcionados por el Departamento de Micología del Hospital Roosevelt y el Departamento de Citohistología de la Facultad de CCQQ y Farmacia, además de extractos etanólicos de siete plantas leguminosas guatemaltecas.

1. Muestra

Un aislamiento clínico de *S. schenckii*, confirmado en el Departamento de Micología del Hospital Roosevelt.

Extractos etanólicos de siete plantas leguminosas nativas, elegidos en base a su disponibilidad, tiempo de recolección y uso popular, preparados u obtenidos en el Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (USAC):

- Hoja de *C. grandis*
- Hoja de *D. robinooides*
- Hoja de *H. courbaril*
- Semilla de *P. lunatus*
- Hoja de *P. vulgaris*
- Hoja de *S. occidentalis*
- Hoja de *V. faba*

Seleccionadas en base a los siguientes criterios:

- Uso medicinal popular reportado para lesiones de la piel y mucosas.
- No se tiene registro de actividad contra esta especie.
- Se obtuvieron de acuerdo a su disponibilidad y tiempo óptimo de recolección.

2. Materiales

a. Equipo

- i) Autoclave marca Morón con control de tiempo (1-60 min.), controles manuales de temperatura (110-127°C) y control de presión (kgf/cm² 0-4), indicadores de alarma y liberador de presión y agua.

- ii) Balanza analítica marca Mettler PM 600, 1 plato, máximo 610 g.
- iii) Balanza semi analítica marca Mettler AE200 con cabina de vidrio gris.
- iv) Campana bacteriológica Labonco Purifier Clase II con luz UV y visible.
- v) Estufa marca Corning con stirrer (1-7) y hotplate (1-7).
- vi) Incubadora 25°C marca Precision/Gravity Convection con controles de temperatura manuales, puerta interna de vidrio y dos parrillas.
- vii) Incubadora marca Fisher Scientific, Modelo 6370, No. de serie 5020005, con controles y pantalla digitales, con 6 parrillas de metal adicionales. Puerta de vidrio. Temperatura utilizada: 37°C.
- viii) Mechero de toque marca Hanau.
- ix) Microscopio marca Olympus con dos oculares 10x y 5 objetivos (4x, 10x, 20x, 40x y 100x) con filtro No. 45-LBD-IF, cordón de energía eléctrica y bombilla de alógeno. Modelo BX40, No. de serie 3H078932M00804.
- x) Percolador Pirex 2000 mL.
- xi) Refrigeradora marca Admiral de dos puertas con congelador.
- xii) Refrigerador de dos puertas marca REVCO, No. de serie P2HE-202113-RE. 8 parrillas en su interior, 1,94 m de alto por 1,435 m de frente y 0,83 m de fondo. Temperatura de 2-10°C.
- xiii) Rotavapor giratorio con colector Brinckman con condensador y accesorios. Marca BÜCHI, modelo 19-548B-461, No. de serie 2409-6411348593.
- xiv) Vortex marca MaxiMix II blanco con control de velocidad y selección de modos (full/power/touch).

b. Reactivos

- i) Agar-agar
- ii) Agar Sabouraud
- iii) Agar Müeller Hinton
- iv) Agua desmineralizada
- v) Dextrosa
- vi) Etanol 95%
- vi) Fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4)
- vii) Medio Takashio
- viii) Peptona

- ix) Sangre de carnero
- x) Solución salina estéril al 0,85%
- vii) Sulfato de sodio (Na_2SO_4)

c. Materiales

- i) Asa de nicromo en espátula, en L y en argolla
- ii) Beackers de 250 y 500 mL
- iii) Cajas de Petri simples
- iv) Cámara de Neubauer
- v) Campanillas de Durham
- vi) Erlenmeyer de 250 y 500 mL
- vii) Fósforos
- viii) Frascos con tapón de rosca
- ix) Gradillas
- x) Jarra
- xi) Papel parafilm
- xii) Pipetas automáticas de 10-100 μL
- xiii) Probeta de 100 y 500 mL
- xiv) Tips amarillos de 10-200 μL
- xv) Tips azules 200-1000 μL
- xvi) Tubos de vidrio con tapón de rosca de 15 mL

3. Procedimiento

- a. Obtención de los extractos de las plantas
 - i) Se homogenizó el material vegetal seco.
 - ii) Se pesaron como mínimo 200 g del homogenizado y se colocó en un percolador con etanol 95%.
 - iii) Se dejó reposar por un mínimo de tres días y fue obtenida la primera porción.
 - iv) Esta porción fue destilada en rotavapor y reconcentrada por 5 días o hasta que se obtuvo el mayor rendimiento de extracto.
 - v) Fue calculado el porcentaje de rendimiento de las especies (47).

$$\% \text{rend.} = \frac{\text{Peso extracto}}{\text{Peso inicial planta}} * 100$$

b. Reactivación y resiembra de la cepa de *S. schenckii*

i) La cepa proporcionada en el Departamento de Micología del Hospital Roosevelt fue resembrada y agar Sabouraud para obtener un cultivo joven.

ii) De éste se obtuvo la fase levaduriforme luego de varios reislamientos en agar sangre de carnero al 10% y en una atmósfera de 5% de CO₂.

c. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las plantas contra la fase micelias de *S. schenckii*

i) Preparación del medio de cultivo (agar-planta)

– Se prepararon tubos con 13,5 mL de agar Sabouraud.

– Fueron esterilizados en autoclave a 121°C durante 15 minutos, y se dejaron enfriar a 50°C y posteriormente se les agregó 1,5 mL del extracto de la planta a probar a cajas de petri estériles.

– El medio fue vertido en las cajas de Petri estériles, se dejó solidificar y se incubó a 36°C durante 24 horas para comprobar esterilidad. Fueron guardados en refrigeración hasta el momento de su uso.

ii) Preparación del inóculo

– Fue preparado el medio Takashio para la esporulación del hongo disolviendo en 300 mL de agua desmineralizada, 0,6 g de dextrosa, 0,3 g de NaSO₄, 0,3 g de KH₂PO₄, 0,3 g de peptona y 0,6 g de agar-agar (48).

– Se prepararon tubos con tapón de rosca de 6 mL del medio. Se esterilizaron en autoclave a 121°C durante 15 minutos y se dejaron solidificar con el mayor declive posible.

– Se descartó contaminación incubando los tubos por 24 horas a 25°C.

– Se sembró el hongo en este medio con un asa de nicromo en L o en espátula y se incubó a 27°C durante 14 días aproximadamente hasta que se obtuvo un crecimiento homogéneo.

– Para la obtención de las esporas se agregó a cada tubo 2 mL de agua destilada estéril y se desprendió el hongo con un asa de nicromo.

– El material obtenido fue trasvasado a tubos con tapón de rosca estériles, los cuales se agitaron por dos minutos en vortex y se realizó el conteo de esporas en cámara de Neubauer, hasta obtener una suspensión de 100 esporas/μL (10 esporas por cuadrante) con agua estéril (47).

iii) Inoculación del hongo

- Se abrieron cuatro agujeros equidistantes en las cajas con agar planta con campanillas de Durham estériles de 5 mm de diámetro.
- Se depositaron en los agujeros 30 μ L de la suspensión de esporas y se incubaron las cajas a 27°C por 14 días, realizando un total de cuatro repeticiones.
- Se utilizó como control negativo una caja de agar Sabouraud sin aditivos inoculada con esporas.

iv) Interpretación de resultados

- Fue medido el diámetro de la colonia del hongo en milímetros al día 14 de incubación.
- Se calculó el porcentaje de inhibición comparando el diámetro contra el de la colonia de la caja control (100% de crecimiento).
- Fueron tomados como positivos los extractos que reducen el diámetro de la colonia en un 75% respecto al diámetro de la colonia de la caja control.

v) Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM)

- Se prepararon tubos con 3.6, 3.8, 3.9 y 4.0 mL de agar Müeller Hinton. Se esterilizaron a 121°C durante 15 minutos y se dejaron enfriar al 50°C para verter en cajas de petri que contienen cada una la solución de extracto disuelto de la siguiente manera:
 - 3.6 mL de agar + 0.4 mL de solución de extracto = 1.0 mg/mL
 - 3.8 mL de agar + 0.2 mL de solución de extracto = 0.5 mg/mL
 - 3.9 mL de agar + 0.1 mL de solución de extracto = 0.25 mg/mL
 - Una caja con 4.0 mL de agar como control negativo.
- Se realizaron 4 pozos y se inocularon las esporas del hongo, incubándolo a 27°C por 14 días.
- Se calculó el porcentaje de inhibición comparando el diámetro contra el de la colonia de la caja control (100% de crecimiento).
- Fueron tomados como positivas las concentraciones de extracto a las cuales se redujo el diámetro de la colonia en un 75% respecto al diámetro de la colonia de la caja control.

d. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las plantas contra la fase levaduriforme de *S. schenckii*

i) Preparación del medio de cultivo (agar-planta)

- Se preparó agar sangre de carnero al 10% y se agregó 1 mL del extracto de la planta a probar debidamente agitados.
- El medio de cultivo fue vertido en cajas de Petri estériles, se dejó solidificar y se incubaron a 36°C durante 24 horas para comprobar esterilidad. Fueron guardadas en refrigeración hasta el momento de su uso.

ii) Preparar el inóculo para la fase levaduriforme:

- El micelio del hongo se sembró en cajas de Petri con sangre de carnero al 10% que se incubaron a 37°C en jarra con candela (ambiente 5% CO₂) durante una semana o hasta que el crecimiento fuera homogéneo.
- Se prepararon tubos con 9 mL de caldo BHI, esterilizados en autoclave a 121°C durante 15 minutos e incubados a 36°C durante 24 horas para comprobar esterilidad.
- Con un asa de nicromo en argolla se inocularon colonias de levadura en el caldo hasta que tuviera una turbidez igual al del estándar 0,5 de MacFarland.

iii) Inoculación de levaduras en placa:

- En las cajas con agar sangre-planta se inoculó con un asa de nicromo la suspensión de levaduras, haciendo ocho estrías en el medio.
- Se incubaron las cajas a 36°C durante 7 días en jarra con candela (ambiente 5% CO₂).
- Para el control negativo, se sembró por estrías la levadura en una caja de agar sangre de carnero 10% con 1 mL de etanol al 50%.

iv) Interpretación de resultados:

- Se observó la presencia o ausencia de crecimiento de la levadura en el medio.
- Fue tomada como actividad antifúngica positiva la ausencia de crecimiento en el medio y como actividad antifúngica negativa, si hubo crecimiento de levadura (47, 49, 50).

4. Diseño estadístico

a. Tipo de estudio

Se realizó un estudio experimental utilizando estadística no paramétrica con criterio de positividad visual (crecimiento homogéneo indica actividad negativa y ausencia de crecimiento, actividad positiva), con un diseño no probabilístico por conveniencia, en el cual la detección de la actividad antifúngica de los extractos se determinó con una concentración de 1 mg/mL, realizando cuatro repeticiones con cada planta. Se realizaron diluciones de 0,5 y 0,25 mg/mL en los casos que resultaron positivos, para la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM).

b. Variables

- i) Variable independiente: Plantas leguminosas nativas guatemaltecas.
- ii) Variable dependiente: Actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las seis plantas seleccionadas.

c. Validez del método

i. Fase miceliar

Se utilizó como control negativo una caja de agar Sabouraud con crecimiento homogéneo del hongo y libre de contaminantes. Se realizaron cuatro repeticiones por cada extracto a probar.

ii. Fase levaduriforme

El control negativo fue agar sangre de carnero al 10% donde hubo crecimiento óptimo de la levadura. Se realizaron cuatro repeticiones por cada extracto a probar (49, 50).

e. Análisis de datos

Con un valor de $p=0,10$ para cuatro repeticiones realizadas, se realizó una prueba de hipótesis binomial, con lo que se pudo determinar lo siguiente:

- i. Actividad antifúngica positiva: Si el extracto inhibe el crecimiento del hongo en un 75 % o más respecto al control negativo.
- ii. Actividad antifúngica negativa: Si el hongo presenta un crecimiento homogéneo mayor al 25 % respecto al control negativo (49, 50).

VIII. RESULTADOS

A. Extractos etanólicos

En la Tabla 1 se muestra el porcentaje de rendimiento de los extractos etanólicos obtenidos del cociente entre los gramos de extracto y el peso de la materia vegetal seca.

Tabla 1. Extractos de las especies seleccionadas y su porcentaje de rendimiento

Planta/(No. Herbario)	Nombre Común	Parte utilizada	% de Rendimiento ^a
<i>Diphysa robinoides</i>	Guachipilín	Hoja	6,02
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Frijol común	Hoja	0,10
<i>Senna occidentalis</i>	Frijolillo, Habilla	Hoja	15,12
<i>Vicia faba</i>	Haba	Hoja	9,10

Fuente: ^a FARMAYA y Laboratorio de Bioensayos, Departamento de Citohistología

B. Evaluación de la actividad antifúngica

La evaluación de la actividad antifúngica para la fase micelial o parasítica del aislamiento de *S. schenckii* demostró actividad positiva para los extractos de la hoja de *D. robinoides* y *H. courbaril* a una concentración de 1 mg/mL, como se muestra en la Tabla 2. Para los extractos de *C. grandis*, *P. lunatus*, *P. vulgaris*, *S. occidentalis* y *V. faba*, no se obtuvo actividad contra esta fase a esta misma concentración (Tabla 2).

Tabla 2. Actividad antifúngica de los extractos (1 mg/mL) contra la fase miceliar de *S. schenckii*

Especie	Crecimiento (mm)	% crecimiento	% inhibición	Actividad
Control negativo	34 ± 0	100	0	-----
<i>Cassia grandis</i>	24,6 ± 2,69	72	28	Negativa
<i>Diphysa robinoides</i>	0 ± 0	0	100	Positiva^a
<i>Hymenaea courbaril</i>	0 ± 0	0	100	Positiva^a
<i>Phaseolus lunatus</i>	13,6 ± 2,29	40	60	Negativa
<i>Phaseolus vulgaris</i>	14,4 ± 0,95	42	58	Negativa
<i>Senna occidentalis</i>	19,62 ± 5,31	59	41	Negativa
<i>Vicia faba</i>	21,12 ± 2,69	62	38	Negativa

*Fuente: Datos experimentales

^a p < 0,10

La concentración inhibitoria mínima (CIM) obtenida para los extractos que presentaron actividad positiva contra la fase miceliar de *S. schenckii* fue de 1 mg/mL y 0,5 mg/mL, respectivamente (p<0,10), correspondiente a cuatro repeticiones), como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. CIM de los extractos contra la fase miceliar de *S. schenckii*

Especie	Parte	CIM (mg/mL)
<i>Diphysa robinoides</i>	Hoja	1
<i>Hymenaea courbaril</i>	Hoja	0,5

*Fuente: Datos experimentales

Para la fase levaduriforme de *S. schenckii* ninguno de los extractos evaluados reportó actividad significativa a una concentración de 1 mg/mL (p>0,10, correspondiente a cuatro repeticiones), por tal razón no se realizó concentración inhibitoria mínima para esta fase.

IX. DISCUSIÓN

En este estudio se determinó la actividad de siete extractos de plantas leguminosas contra las fases micelial y levaduriforme del hongo *Sporothrix schenckii*. Los siete extractos a ensayar fueron seleccionados en base a tres criterios: poseer uso medicinal popular reportado para lesiones de la piel y mucosas, no tener registro de actividad contra esta especie y en base a su disponibilidad y tiempo óptimo de recolección.

De los extractos etanólicos preparados, el porcentaje de rendimiento indica la cantidad de materia prima que se obtiene por cada 200 g de materia seca, dato que puede ser de utilidad en estudios posteriores sobre estas especies. Al respecto se puede mencionar que la especie vegetal con el más alto rendimiento es *S. occidentalis* (15,12%), lo que facilita su desarrollo para ser utilizada como materia prima. Menor rendimiento tuvieron los extractos de *V. faba* (9,10%), *D. robinoides* (6,02%), y por último el de *P. vulgaris* (0,10%) con un escaso rendimiento, por lo que se necesitará mayor cantidad de material vegetal seca para la elaboración de un extracto.

Para la realización del bioensayo fue tomada una sola cepa del hongo de la que fue posible obtener sus dos fases, es decir pudiendo convertirla a fase levaduriforme de mejor forma. Los otros aislamientos eran más antiguos y su manipulación era mayor, consecuentemente, su viabilidad se vio disminuida.

Tuvieron actividad significativa contra *S. schenckii* los extractos de *D. robinoides* y *H. courbaril*. Al ser sometidos a la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM) reportaron actividad antifúngica a concentraciones de 1 mg/dL y 0,5 mg/dL respectivamente. Con base en estos resultados, se apoya el uso tradicional de estas especies. A pesar de esto, no se puede definir el mecanismo de acción de estos extractos ya que no se cuenta con el compuesto activo en forma pura para ser sometido a bioensayos que comprueben su actividad en forma precisa.

Estas especies son utilizadas popularmente para el tratamiento de úlceras y heridas sin comprobación científica. De acuerdo con estudios previos, se sabe que poseen actividad contra los dermatofitos *Mycosporum canis* y *Trichophyton rubrum* (5).

Se sabe que algunos de los compuestos activos presentes en el extracto de *D. robinoides* son flavonoides como las antraquinonas (51-54), compuestos que pueden ser los responsables de la propiedad antifúngica actuando contra la pared celular ya sea en la inhibición de la síntesis o penetrando en ella, o posiblemente debido a su acción antioxidante o su afinidad por hormonas y/o proteínas celulares actúa como inhibidor de procesos fundamentales para el hongo. Además, debe tenerse en cuenta que las condiciones ambientales generan cambios morfológicos y de desarrollo en la pared celular de las dos fases por lo que la respuesta es distinta ante mecanismos de acción, adsorción o absorción de dichos compuestos (12,17, 51-53).

La resina de la corteza y el fruto *H. courbaril* se han utilizado empíricamente con buenos resultados para el tratamiento de úlceras y heridas. Además, el extracto de corteza de esta especie posee actividad *in vitro* contra *Candida albicans*, y, por la actividad observada en este estudio, se infiere que las hojas poseen también un principio activo en contra la fase parasítica de *S. schenckii*. 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 los cuales pueden ser responsables de la actividad (2, 4, 51-58).

Pese a que se valida la actividad de estos extractos contra la fase miceliar del hongo, no se obtuvo actividad contra la fase levaduriforme, y, tomando en cuenta que cuando la enfermedad se hace evidente, ya hubo diseminación y conversión del micelio en levadura, éstos resultados indican que los extractos no son útiles como alternativa terapéutica en estadíos avanzados. Sin embargo, debido a que la fase miceliar y/o esporas son las que se inoculan inicialmente, podría probarse la viabilidad de estos extractos como tratamiento profiláctico, preventivo o desinfectante si se utiliza inmediatamente después de la inoculación.

Debe tomarse en cuenta que la CIM obtenida fue relativamente alta y en el desarrollo de productos medicinales comerciales disminuye su potencialidad como materia prima. Sin embargo, es necesario, en vista de que poseen actividad demostrada en lesiones de la piel y mucosas, desarrollar estudios posteriores para identificar los principios activos y optimizar su acción fungistática (4, 27, 29).

X. CONCLUSIONES

1. El mayor porcentaje de rendimiento en la elaboración de extractos etanólicos fue obtenido de *S. occidentalis*, seguido de *V. faba*, *D. robinoides* y *P. vulgaris*.
2. Los extractos de *D robinoides* y *H. courbaril* poseen actividad antifúngica contra la fase miceliar de *S. schenckii* ($p < 0,10$).
3. Los extractos etanólicos de las especies estudiadas no demostraron actividad contra la fase levaduriforme de *S. schenckii*.
4. La CIM contra la fase miceliar de *S. schenckii* del extracto de *H. courbaril* fue de 0,5 mg/dL.

XI. RECOMENDACIONES

1. Definir los principios activos presentes en las plantas que demostraron actividad antifúngica contra *S. schenckii* para determinar su mecanismo de acción.
2. Realizar estudios que encuentren los mecanismos de acción de los compuestos activos presentes en *H. courbaril* y que demuestren su acción en las paredes celulares de las fases micelial y levaduriforme de *S. schenckii*.
3. Determinar la actividad antifúngica de otras especies de leguminosas utilizadas popularmente en el tratamiento de afecciones mucocutáneas, con la finalidad de obtener otras opciones terapéuticas menos agresivas, a bajo costo y al alcance de toda la población guatemalteca.

XII. REFERENCIAS

1. Lorenzana L. Actividad biocida de seis plantas de uso medicinal en el municipio de Tacaná, San Marcos, Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2003. 52p.
2. Del Cid N. Actividad de diecisiete extractos de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Fonsecae pedrosoi*. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2005. 52p.
3. Logemann H. Manual Práctico de Micología Médica. Guatemala: Bayer de Guatemala, 1995. 227p.
4. 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.
5. 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. Doc. Tec. Cuaderno de Investigación 7-92. 89p.
6. Rai M, Mares D, eds. Plant-Derived Antimycotics. USA: Haworth Press, Inc. 2003. 587p.
7. Cáceres A, Girón L. Desarrollo de medicamentos fitoterápicos a partir de plantas medicinales en Guatemala. Rev Fitoter 2002; 2(1): 41-46.
8. Robbins S. et al. Patología Estructural y Funcional. 7 ed. México: Interamericana, McGraw Hill. 2005. 1517p.
9. Rippon JW. Micología Médica; Hongos y Actinomicetos patógenos. 3ed. México: Interamericana, McGraw Hill, S.A. de C.V., 1990. 854p.
10. Murray P. et al. Microbiología Médica. 5 ed. España: Elsevier Inc. 2006. 963p.

11. Koneman E, Robert G. Micología Práctica de Laboratorio. 3 ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana. 1987. 221p.
12. Hardman S, *et al.* Disseminated *Sporothrix schenckii* in a patient with AIDS. J of Infec 2005; 51:73-77.
13. Michel da Rosa A, *et al.* Epidemiology of sporotrichosis: A study of 304 cases in Brazil. Am Acad of Dermatol 2005; 52(3):451-459.
14. Morales R. Un cas de lymphangite sporotrichosique au Guatemala. Ann Parasitol 1931; 9:366-367.
15. Wyss J. La esporotricosis en Guatemala. Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos, Guatemala, 1937.
16. Mayorga R. *et al.* Investigación de una zona endémica de esporotricosis en la región de la Laguna de Ayarza, Guatemala. Bol Of Sanit Panam 1979; 87(1):20-34.
3. Mesa AC, *et al.* Phenotyping and genotyping of *Sporothrix schenckii* isolates according to geographic origin and clinical form of sporotrichosis. J Clin Microbiol 2002, 40(8):3004–3011.
17. Anaissi EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. Clinical Mycology. USA: Churchill Livingstone, 2003. 608p.
18. Parslow T, *et al.* Inmunología Básica y Clínica. 10 ed. México: El Manual Moderno S.A. de C.V., 2002. 917p.
19. Smith CM, Reyard AM. Farmacología. Argentina: Médico Panamericano, 1995, 1135p.

20. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11 ed. Colombia: McGraw Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. 2007. 2017p.
21. Datzung BG. Farmacología básica y clínica. 8 ed. México: El Manual Moderno, 2002. 1346p.
22. Barrett M, ed. The Handbook of Clinically Tested Herbal Remedies. USA: The Haworth Herbal Press. Vols. 2, Vol.1, 2004. 745p.
23. Harshberger GJ. (In Ford RI). Ethnobotany: history, diversity and sintesis. USA: Ann Arbor, University of Michigan. 1978; No.67.
24. Johns T. Foods and Medicines. An Introduction. En Minnis, E., Ethnobotany. A Reader. 2000.
25. Ruiz I. Caracterización de las prácticas etnobotánicas de las comunidades Chelemá y Chelemá II, del municipio de Tucurú, Alta Verapaz. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2006. 91p.
26. Cleaves C. Etobotánica 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.
27. Martin GJ. Ethnobotany. London: Chapman & Hall, 1985. 289p.
28. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria Universidad de San Carlos de Guatemala, 1996. 493p.
29. Rojas R, *et al.* Antimicrobial activity of selected peruvian medicinal plants. J Ethnopharmacol 2003; 88:199-204.
30. Ara A. 40 Plantas Medicinales. España: Vida Natural. 2004. 220p.

31. Vademécum de prescripción de plantas medicinales; Fitoterapia. 3 ed. España: Masson, S.A., 1998. 1148p.
32. Villar L. La Flora Silvestre de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos. Colección Manuales, Doc. Tec. No. 6, 1998. 99p.
33. Médicos descalzos, Programa Mujer, Salud y Desarrollo. Guía Fitoterapéutica. Guatemala: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Doc. Tec. 1998. 107p.
34. Ocampo RA. Domesticación de plantas medicinales en Centroamérica. Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Serie Técnica, Doc. Tec. No. 245, 1994.
35. 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 di Etnomedicina:PO 63; 2004.
36. Zacchino A, Gupta M. Manual de técnicas *in vitro* para la detección de compuestos antifúngicos. España: Corpus Editorial y Distribuidora. 2007. 188p.
37. Stanley P, Steyermark JA. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Botany, Vols. 24, Vol. 6, 1946. 468p.
38. Tillán J, *et al.* Actividad antianemica de la *Cassia grandis*. Rev Cub Far 2004; 38(3) 35-40.
39. Lagarto A, Guerra MI. Toxicidad aguda oral de 3 formas farmacéuticas a partir de *Cassia grandis* L. Rev Cub Plant Med 2000; 5(2):68-70.
40. Pérez CR. Guía dendroenergética. El Salvador: Ministerio de Agricultura y Ganadería. Doc. Tec. 2000. 10p.

41. Martínez JV, Granados N. Guía y generalidades del cultivo de las especies de la colección y huerto productivo de plantas medicinales y aromáticas. Guatemala: Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, Doc. Tec. No.1, 2005. 47p.
42. Aguilar JI. Relación de unos aspectos de la flora útil de Guatemala. Guatemala: Ministerio de Agricultura, 1966. 383p.
43. 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.
44. 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.
45. Beyra A, Reyes G. Revisión taxonómica de los géneros *Phaseolus* y *Vigna* (Leguminosae-Papilionoideae) en Cuba. España: Anales del jardín botánico de Madrid 2004; 61(2):135-154.
46. 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.
47. Vanbreseghem R, De Vroey C, Takashio M. Production of macroconidia by *Microsporium ferrugineum* OTA 1922. *Sabourodia* 1970; 7:252-256.
48. Bancrato FP, Golding NS. The diameter of the mould colony as a reliable measure of growth. *J Mycol* 1983; 45:848-863.
49. Mac Rae WD, *et al.* Studies on the pharmacological activity of amazonian euphorbiaceae. *J Ethnopharmacol* 1988; 22:143-172.
50. Pahlow M. El gran libro de las plantas medicinales. 5 ed. España: Everest. 1985. 465p.

51. Figueroa LP. 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. 66p.
52. León F. Inhibición de la pared celular de hongos como un mecanismo de acción antifúngica de algunas leguminosas. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1997. 56p.
53. Martínez S, *et al.* Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hospit 2002; 6:271-278.
54. Sánchez JF, *et al.* La inducción del estrés en la pared celular del hongo *Sporothrix schenckii* genera una activación en la ruta de síntesis de hexosaminas. México: Instituto de Investigación en Biología Experimental. SEP-CONACYT. 2002.
55. Lorenzo P, *et al.* Velásquez Farmacología Básica y Clínica. 17ed. España: Editorial Médica Panamericana. 2002. 1250p.
56. Sabanero M, *et al.* Interacción de levaduras de *Sporothrix schenckii* con epitelios. Invest y Cien 2006; 36;10-14.
57. 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.
58. Instructivo para la realización de trabajos de tesis ad gradum de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica. 20p.

XIII. ANEXOS

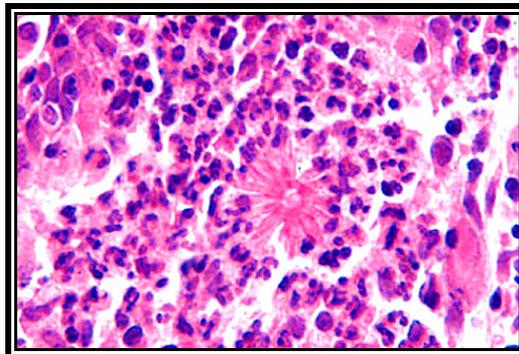
Anexo 1

Simpodioconidios (Aspecto de margarita)



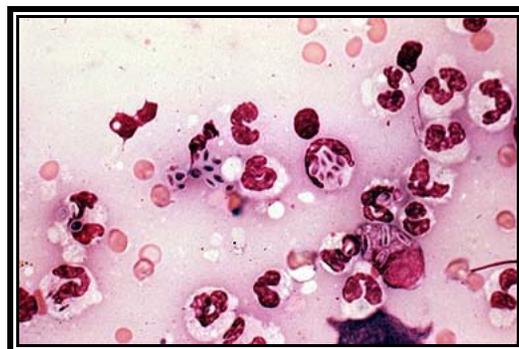
Anexo 2

Cuerpos asteroides



Anexo 3

Levaduras (Tinción Giemsa)



Anexo 4

Fig. 1 Esporotricosis



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 material vegetal seca



Fig. 10 Proceso de percolación



Fig. 11 Extracto etanólico de la planta



Fig. 12 Dsecadora



Fig. 13 *S. schenckii* en medio Sabouraud y Takashio



Fig. 14 Incubación de *S. schenckii* en agar-planta



Fig. 15 Control negativo y extractos con actividad contra *S. schenckii*



Fig. 16 Extracto sin actividad contra *S. schenckii*



Fig. 17 Incubación levadura *S. schenckii* (Agar sangre de carnero 10% y atmósfera de CO₂)



Fig. 18 Actividad negativa contra fase levaduriforme de *S. schenckii*



Ana Margarita García Sánchez

Autora

MA. Ana Margarita Paz de Ramírez

Asesora

Lic. Armando Cáceres

Asesor

Lic. Gerardo Arroyo

Revisor

Lic. Osberth Morales

Revisor

Licda. Vivian Matta de García

Directora de Escuela Q.B.

Oscar Cobar Pinto, Ph. D.

Decano Facultad de CC.QQ. y Farmacia