

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ANTIFUNGICAS DE LOS EXTRACTOS
DE HOJAS DE *Cassia grandis* (Carao) Y BULBOS DE *Allium sativum* (Ajo)
EN *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENADO POR:

SARA MARGARITA LAZO HERNANDEZ
VLADIMIR ERNESTO RIVAS ROMERO

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

JULIO DE 2004

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.



©2004, DERECHOS RESERVADOS

Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador

<http://virtual.ues.edu.sv/>

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA

Dra. MARIA ISABEL RODRIGUEZ

SECRETARIA GENERAL

Licda. ALICIA MARGARITA RIVAS DE RECINOS

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

Lic. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIA

MSc. MIRIAM DEL CARMEN RAMOS DE AGUILAR

COMITE DE TRABAJOS DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Licda. MARIA C. ODETTE RAUDA ACEVEDO

COORDINADORA DE AREA

CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS Y
COSMETICOS, HUMANOS Y VETERINARIOS

MSc. ROCIO RUANO DE SANDOVAL

COORDINADORA DE AREA

APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES

MSc. ARMANDO NELSON GENOVEZ LEONOR

DOCENTES DIRECTORAS

Licda. RHINA ANTONIETA TOLEDO MENDOZA

MSc. CORALIA DE MURILLO

AGRADECIMIENTOS

A nuestras Docentes Directoras:

Lic. Rhina Antonieta Toledo y MSc. Coralia de Murillo, por habernos guiado durante la realización de este trabajo, por compartir con nosotros sus conocimientos y por brindarnos constantemente su apoyo.

A la Coordinadora General de Procesos de Graduación:

Lic. María C. Odette Rauda, por su paciencia, preocupación y buena crítica que ayudó a perfeccionar este trabajo.

A los Coordinadores de Área:

MSc. Armando Nelson Genovez y MSc. Rocío de Sandoval, por contribuir con su buena crítica y conocimientos a las mejoras de esta investigación.

Así también agradecemos a todas las personas que se vieron involucradas en el desarrollo de esta investigación. Mil gracias.

Margarita y Vladimir

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso, por darme la vida, la inteligencia y la fortaleza para culminar con éxito mi carrera.

A mi Madre: Bertha Isabel, por todo su sacrificio, amor, apoyo y comprensión.
Gracias Madre por ser como eres.

A mi Padre: Arnoldo, por su amor, confianza y apoyo.

A mis Hermanos: Cecilia, Miguel y Fernando, por su paciencia y compañía en todo momento.

A mis abuelos: Arnoldo y Sary, por sus oraciones constantes.

A mis Tías: Mercedes y Sary, por quererme y ser siempre mis amigas.

A mi novio: Frederick, por su amor incondicional, comprensión y por brindarme su apoyo en todo momento. Gracias Negro.

A mis demás familiares y amigos con mucho cariño.

Margarita

DEDICATORIA

Al Rey de los Siglos: misericordioso, inmortal, invisible al único y sabio Dios, mi Señor, Salvador Jesucristo, por darme una vida nueva y por iluminar mi mente para obtener este triunfo, porque de El y para El son todas las cosas, a El sea la gloria y la honra por los siglos. Amen

A mis padres: con gran respeto, admiración y amor, por su paciencia, consejos y oraciones, por ser mi ejemplo en todo, gracias por sus sacrificios y comprensión que me brindaron a lo largo de mi carrera.

A mis hermanos: que por sus oraciones, cariño, comprensión y apoyo moral hicieron más fácil la culminación de mi carrera.

A mis líderes espirituales y a mi Maestro de Biblia, por sus oraciones, por sus enseñanzas, por ser mis ejemplos de amor y entrega a Dios, lo cual me motivo a depender de Jesús, en especial en el transcurso de mi carrera.

A la familia Rivas Arévalo, a Mercedes Galindo, Lourdes Morales con especial gratitud por haberme llevado a través en oración a recibir a Jesús en mi corazón, por su apoyo y hospitalidad que me han brindado en mi vida.

A mi novia: por su apoyo en oración, por brindarme alientos por cada gesto de aprecio y cariño.

A mis amigos, hermanos espirituales y familiares, porque en un solo cuerpo en él me apoyaron en oración y aliento para obtener este regalo.

A quienes amo le comparto: El amor es sufrido, es benigno y el amor no tiene envidia, el amor no es jactancioso, no se envanece y no hace nada indebido, no busca lo suyo, no se irrita, no guarda rencor y no se goza de la injusticia, más se goza de la verdad. Todo lo sufre, todo lo cree, todo lo espera, todo lo soporta. El amor nunca deja de ser. 1 Corintios 13:4-8A

Vladimir

INDICE

	No. Pág.
RESUMEN	
CAPITULO I	
1.0 INTRODUCCIÓN	xviii
CAPITULO II	
2.0 OBJETIVOS	20
CAPITULO III	
3.0 MARCO TEORICO	
3.1 Definición de Plantas Medicinales	22
3.2 Monografía del Carao	23
3.3 Monografía del Ajo	27
3.4 Generalidades de las Micosis	35
3.5 Clasificación de los Dermatofitos	36
CAPITULO IV	
4.0 DISEÑO METODOLOGICO	
1. Investigación Bibliográfica	39
2. Investigación de Campo	39
2.1 Recolección del Material Vegetal	39
2.2 Preparación del Material Vegetal	40
3. Investigación de Laboratorio	40
3.1 Obtención de los Extractos por el Método de Maceración ...	40
3.2 Métodos de Análisis	41

3.2.1	Ensayo para determinar glicósidos cardiotónicos	41
3.2.2	Ensayo para determinar glicósidos saponínicos	42
3.2.3	Ensayo para determinar flavonoides	43
3.2.4	Ensayo para determinar taninos	43
3.2.5	Ensayo para determinar sesquiterpelactonas	44
3.2.6	Ensayo para determinar alcaloides	45
3.2.7	Ensayo para determinar antraquinonas	46
3.3	Identificación de Alicina Mediante Cromatografía en Capa Fina	46
3.4	Pruebas de Identificación Morfológica de los Hongos.....	48
3.4.1	Análisis Morfológico de las Colonias	48
3.4.2	Análisis Microscópico Preliminar de los Hongos	49
3.5	Determinación de la Concentración Efectiva de los Extractos..	51
3.5.1	Preparación de los Extractos	51
3.5.2	Preparación del Control Positivo de Ketoconazol	52
3.5.3	Desarrollo del Método Kirby Bahuer Modificado	52
3.5.4	Fundamento del Método Kirby Bahuer Modificado	55
3.6	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria	56
3.6.1	Preparación de los Extractos.....	56
3.7	Obtención de la Concentración Mínima Fungicida	60
3.7.1	Preparación de los Extractos	60
3.8	Interpretación de los Resultados Antifúngicos	64

CAPITULO V	
5.0 RESULTADOS	66
CAPITULO VI	
6.0 ANALISIS DE LOS RESULTADOS.....	82
CAPITULO VII	
7.0 CONCLUSIONES	89
CAPITULO VIII	
8.0 RECOMENDACIONES.....	93
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

INDICE DE FIGURAS

	No. Pág.
Figura No. 1	
Técnica del Hisopado	48
Figura No. 2	
Resultados de Cromatografía en Capa Fina para la Alicina	67
Presente en el Ajo	

INDICE DE CUADROS

	No. Pág.
Cuadro No. 1	
Características de los Hongos en Estudio	50
Cuadro No. 2	
Resultados del Análisis Fitoquímico Preliminar de los Extractos	66
de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No.3	
Resultados de la Identificación Morfológica de las Colonias	68
de los Hongos en Ensayo	
Cuadro No. 4	
Resultados de la Identificación Microscópica de los Hongos	69
en Ensayo	
Cuadro No. 5	
Resultados de la Concentración Efectiva de los Extractos de	70
Hojas de Carao y Bulbos de Ajo a 2000ppm	
Cuadro No. 6	
Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria a 2000ppm	71
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 7	
Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria a 1000ppm	71
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	

Cuadro No. 8	
Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria a 500ppm	72
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 9	
Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria a 250ppm	72
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 10	
Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria a 150ppm	73
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 11	
Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria a 100ppm	73
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 12	
Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria a 50ppm	74
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 13	
Cuadro Resumen de la Concentración Mínima Inhibitoria de	75
los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo ante los	
Microorganismos de Prueba	
Cuadro No. 14	
Resultados de la Concentración Mínima Fungicida a 2000ppm	76
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	

Cuadro No. 15	
Resultados de la Concentración Mínima Fungicida a 4000ppm	76
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 16	
Resultados de la Concentración Mínima Fungicida a 6000ppm	77
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 17	
Resultados de la Concentración Mínima Fungicida a 8000ppm	77
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 18	
Resultados de la Concentración Mínima Fungicida a 10,000ppm	78
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 19	
Resultados de la Concentración Mínima Fungicida a 12,000ppm	78
de los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo	
Cuadro No. 20	
Cuadro Resumen de la Concentración Mínima Fungicida de	79
los Extractos de Hojas de Carao y Bulbos de Ajo ante los	
Microorganismos de Prueba	
Cuadro No. 21	
Resultados de la Concentración Mínima Fungicida a 10,000ppm	80
y 12,000ppm del Control Positivo de Ketoconazol ante los Hongos	
en Estudio	

RESUMEN

El presente estudio comprende la evaluación de la actividad antimicótica de los extractos de hojas de *Cassia grandis* (carao) y bulbos de *Allium sativum* (ajo), los cuales fueron elegidos luego de haber realizado una extensa revisión bibliográfica sobre plantas con propiedades antimicóticas, ya que de ambas plantas la bibliografía no reportaba datos específicos sobre su actividad antimicótica, ni sobre qué hongos ejercían sus efectos.

Es por lo anterior, que se determinó utilizar en esta investigación las hojas de *Cassia grandis* (carao) y bulbos de *Allium sativum* (ajo) para la comprobación de su efecto antimicótico.

Luego de la recolección de cada una de las plantas, se procedió a la obtención de los extractos hidroalcohólicos por medio del método de maceración, luego fueron concentrados utilizando un rotavapor.

A los extractos obtenidos se les realizaron pruebas fitoquímicas preliminares para determinar en una forma cualitativa los principales metabolitos secundarios presentes en cada uno de ellos.

Utilizando la técnica de Cromatografía en Capa Fina se logró la identificación de la alicina, el compuesto responsable de la actividad antifúngica del ajo.

Los microorganismos de prueba en esta investigación fueron tres hongos pertenecientes a la clase de los dermatofitos: *Microsporium canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*.

Previo al desarrollo del método Kirby Bahuer Modificado, para determinar la efectividad de los extractos ante los hongos en estudio, se procedió a realizar las pruebas de identificación morfológica y microscópica de cada uno de los hongos con el fin de verificar la pureza de los mismos.

Diferentes concentraciones de los extractos fueron evaluadas, partiendo de 2000ppm para determinar la Concentración Efectiva de los Extractos, Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Fungicida (CMF). Utilizando el Ketoconazol al 1% y 1.2% como control positivo.

CAPITULO I
INTRODUCCIÓN

1.0 INTRODUCCION

La utilización de plantas medicinales en el área de prevención de la salud y para el tratamiento de obtener la cura total de enfermedades ha sido durante todos los tiempos una herramienta práctica utilizada por el hombre para sobrevivir en el medio ambiente, en la actualidad el uso conlleva al interés por demostrar científicamente cada una de las propiedades que a ellas se les confieren. Es por ello que el estudio que a continuación presentamos se basó en la evaluación de la actividad antifúngica, que de acuerdo al uso popular se conoce, poseen las hojas de *Cassia grandis* (carao) y bulbos de *Allium sativum* (ajo).

Para la evaluación se utilizaron tres hongos patógenos pertenecientes a la clase dermatofitos: *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*, los cuales son capaces de colonizar cabellos, uñas y capa externa de la epidermis (estrato córneo), estos crecen sobre la queratina que se encuentra en esos lugares causando infecciones llamadas tiñas. ⁽¹⁵⁾

Utilizando la técnica de maceración fueron obtenidos los extractos de cada una de las plantas y por medio del método Kirby Bahuer Modificado se comprobó la actividad antifúngica de estos extractos ante los hongos mencionados, así como también la concentración mínima fungicida e inhibitoria.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Estudiar las propiedades antifúngicas de los extractos de hojas de *Cassia grandis* (carao) y bulbos de *Allium sativum* (ajo) en *Microsporium canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*.

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1 Determinar los componentes químicos, de los extractos de cada una de las plantas, mediante el análisis fitoquímico preliminar.
- 2.2.2 Determinar la concentración a la cual ejercen efecto los extractos
- 2.2.3 Establecer la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)
- 2.2.4 Obtener la Concentración Mínima Fungicida (CMF)

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 DEFINICION DE PLANTAS MEDICINALES ⁽¹⁹⁾

En las plantas medicinales, las hojas constituyen uno de los órganos más importantes, pues es allí donde se realiza la mayor parte de los procesos metabólicos de la planta. A través de la fotosíntesis, por ejemplo, la planta elabora dos clases de compuestos nitrogenados: las proteínas o principios inmediatos, y los alcaloides o principios activos, de acción fisiológica específica y energética.

Además de estos, biosintetizan una gran cantidad de compuestos orgánicos. Una parte de estos compuestos pasan a ser elementos de reserva de la planta, tales como: terpenos y componentes aromáticos de cuyo conjunto se forman las esencias, resinas, los heterósidos, etc. y otra parte se transforman en compuestos que la planta necesita tales como los lípidos, etc.

A continuación se detallarán las monografías de cada una de las plantas que se estudiaron, presentándose en ellas su descripción botánica, origen, distribución, composición química, usos, toxicidad y actividad antimicrobiana.



3.2 MONOGRAFIA DEL CARAO ^(3,11,14)

Nombre científico: *Cassia grandis*

Nombre vulgar: Bucut, carago, caragua,
Caragüe, carao, mucut, santal.

Familia: Leguminosas

Sub-familia: Cesalpiniáceas



Descripción Botánica

El carao es un árbol que puede alcanzar grandes dimensiones hasta de 30 metros de alto, con 2 ó 3 ramificaciones secundarias y numerosas ramas terciarias que le dan un conjunto esbelto, tronco 1 metro de diámetro; corteza escamosa, fibrosa, café, es acreditada como una bella planta ornamental debido a sus flores rosadas de que se cubre en la época de la floración verificada en los primeros meses del año, dichas flores son racemosas, sépalos anchos, ápice redondo, con 10 estambres.

Las hojas tienen 10 ó 20 pares de hojuelas oblongadas redondeadas por ambos extremos, 3 a 5 centímetros de largo, brillantes, puberulentos o glabros.

La parte mas empleada de la planta es el fruto, formado por una vaina que puede alcanzar hasta 1 metro de longitud por unos 5 ó 6 centímetros de diámetro. Es una larga vaina cilíndrica de consistencia leñosa aunque frágil. El pedúnculo es corto, leñoso y de su inserción en la vaina siguen la longitud del

fruto, hacia un lado una nervadura sencilla, y opuesta a esta, una nervadura doble, separada por un ligero espacio.

El fruto es indehisciente, pero al ser abierto por medio de golpes, se observan muchos lóculos separados por tabiques transversales muy delgados de color amarillento.

Cada lóculo esta lleno de una pulpa de color rojo oscuro, de consistencia espesa, de olor fuerte, de sabor dulce, fácilmente soluble en agua, quedando los tabiques completamente limpios. La fluidez de esta pulpa se acentúa dejando las vainas enteras en un lugar húmedo o mojándolas con alguna frecuencia. Alternando entre si y adheridos a los tabiques, se encuentran granos comprimidos, lisos y brillantes de color ligeramente rojizos.

Origen y Distribución.

La familia de las leguminosas especialmente la sub-familia *Cesalpiniaceae* ha aportado a la farmacia grandes especies de mucha importancia originarias de el Continente Africano. El carao proviene de la Etiopía, la patria del café. La etimología del género de esta especie viene del griego KASIA y del hebreo KETZOTH, nombre del ser. Esta planta crece en climas cálidos y húmedos por lo que es nativo de Centro América, Caribe, Antillas Mayores y Norte de Sur América en terrenos abiertos, bordes de caminos y pastizales hasta 900 metros sobre el nivel del mar.

Composición Química.

Hojas: Contienen antraquinonas (aloe-emodina, ácido crisofánico, fisciión, reina), barakol, flavonoides (Kampferol), leucoantocianinas y saponinas.

Fruto: Contiene ácido cinámico y azúcares.

Semilla: Contiene flavonoides y polisacáridos.

Farmacognosia.

La materia médica son las hojas secas y pulpa del fruto, aunque no hay estudios farmacognósicos que relacionen la actividad farmacológica demostrada con su composición química. Para su procedimiento y control de calidad deben usarse criterios aplicados con otras plantas medicinales de características botánicas, agronómicas, farmacológicas y químicas similares.

La actividad antifúngica y catártica se debe, en parte a su contenido de aloe-emodina, la cual es una antraquinona ácida, peso molecular 270, cristal anaranjado, con actividad contra líneas celulares tumorales; en tolueno se forman cristales naranja, punto de fusión de 223-224 °C , soluble en alcohol y éter.

Usos

La decocción de hojas, fruto y corteza es utilizada por vía oral para el tratamiento de anemia, hemorragia nasal, enfermedades del hígado, infección

urinaria, resfrío y tos; por vía tópica se prepara un ungüento de las hojas para el tratamiento de afecciones de la piel y mucosas como herpes, llagas y tiñas.

De las raíces se extrae un líquido antiséptico que se utiliza para la curación e heridas. A las hojas y frutos se les atribuyen propiedades antianémicas, antimicóticas, antisépticas, astringentes, depurativas, diuréticas, estimulantes, mineralizantes, pectorales, purgantes y sedantes.

La pulpa del fruto maduro tiene un olor fuerte, es comestible o se prepara un refresco que es astringente, depurativa, laxante, pectoral y tónico.

Actividad Antimicrobiana.

Estudios antimicrobianos demuestran que la tintura de hojas es activa contra *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*.

La decocción de hojas es activa contra ciertos hongos, presentando actividad fungicida y fungistática.

Toxicidad.

La pulpa del fruto se dice que es abortiva. El exceso de ingestión de esta planta puede causar problemas en la sangre ya que ésta posee alto contenido de hierro.

3.3 MONOGRAFIA DEL AJO ^(2,7,17,18)

Nombre Científico: *Allium sativum*

Nombre común: Ajo

Familia: Liliáceas



Descripción Botánica.

La palabra ajo según algunos, deriva de *All*, que en las lenguas célticas quería decir, quemante.

Planta herbácea por todos conocida y que se cultiva en gran escala en muchos países debido a su consumo generalizado. Esta provista de unas largas hojas, estrechas, planas en su mitad inferior. En el nacimiento de las hojas superiores crecen las flores reunidas en umbela de color blanco verdoso. Produce un bulbo compuesto de numerosos gajos, que conocemos por “dientes”, dispuestos en torno, de sabor fuerte y olor característico.

Es muy importante en la historia culinaria, medicinal y ritual de la mayoría de culturas de la antigüedad.

Desde épocas remotas además de emplearse para sazonar los alimentos, el ajo se ha venido empleando para curar diversas enfermedades.

Sistema Radicular: Raíz bulbosa, compuesta de 6 a 12 bulbillos (dientes de ajo), reunidos en su base por medio de una película delgada, formando lo que se conoce como “cabeza de ajo”. Cada bulbillo se encuentra envuelto por una

túnica blanca, a veces algo rojiza, membranosa, transparente y muy delgada, semejantes a las que cubren todo el bulbo. De la parte superior del bulbo nacen las partes fibrosas, que se introducen en la tierra para alimentar y anclar la planta.

Tallos: son fuertes, de crecimiento determinado cuando se trata de tallos rastreros que dan a la planta un aporte abierto, o de crecimiento indeterminado cuando son sumergidos y erectos, pudiendo alcanzar hasta 2-3 metros de altura. Dependiendo del marco de plantación, se suelen dejar 2 a 5 tallos por planta. Los tallos secundarios brotan de las axilas de las hojas. Asoman por el centro de las hojas. Son huecos, muy rollizos y lampiños y crecen desde 40 centímetros a más de 55, terminando por las flores.

Hojas: Lineales, envainantes, puntiagudas, aplanadas, de 2-3 centímetros de ancho.

Flores: hermafroditas actinomorfas, se encuentran contenidas en una espata membranosa que se abre longitudinalmente en el momento de la floración y permanece marchita debajo de las flores. Se agrupan en umbelas. Cada flor presenta 6 pétalos blancos, 6 estambres y un pistilo; ovario oblongo ovoideo.

Origen y Distribución.

De origen euroasiático, cultivada en todas partes del mundo. Originario de Kirguiz, Siberia y domesticado en Asia Central a partir de *A. Lingicupis* Regel. Diseminado por las tribus nómadas al este y oeste, de donde se ha cultivado y

usado ampliamente en casi todas las cultura desde hace mas de 5000 años. Llegó a América a través de Europa en el siglo XV. Es cultivada en varia regiones del mundo en sitios donde hay abundante agua. En Guatemala es cultivada en la mayor parte del país, particularmente en Huehuetenango y Sololá.

Se cultiva en suelo suelto, rico, limo-arenoso, gumigero, profundo, bien drenado, pH 6-8; clima templado o frió 1000-2400 metros sobre el nivel del mar, con temperatura ambiental de 15-24°C.

Las plantaciones, se suelen realizar en octubre o noviembre, aunque a veces se realizan plantaciones tardías a finales de diciembre y principios de enero. Se lleva a cabo en platabandas o en caballones.

Platabandas: Este método es apropiado para grandes cultivos y para aquellas zonas donde existan dificultades para practicar riegos (zonas de secano). Se realizan con una anchura de 2-3 metros y una separación de 0.7-1 metros. La plantación se lleva a cabo en hoyos abiertos, dejando 30 centímetros entre líneas y 20 –25 centímetros entre plantas de una misma línea.

Caballones: Es el sistema mas empleado y el mas adecuado para cultivar ajos en lugares con problemas de suministros de agua. Los caballones pueden construirse con arados de vertedera alta o con azadones. El ancho de los surcos será de 50 centímetros y los bulbillos se plantaran a 20 centímetros entre si y a 20-25 centímetros entre líneas. La profundidad a la que se planten dependerá del tamaño del bulbillo, aunque suele ser de 2-3 centímetros o de 4

a lo sumo. También puede cultivarse en arrietes, bordeando los cuadros de cultivos hortícolas, colocados en filas distanciadas a 12 cm.

Recolección.

En las plantaciones de otoño son necesarios 8 meses para llegar a la cosecha y 4 meses ó 4 meses y medio en las plantaciones de primavera. El momento justo para la cosecha corresponde a la completa desecación de las hojas, realizando el arranque de las cabezas con buen tiempo. En terrenos sueltos los bulbos se desenterrarán tirando de las hojas, mientras que en terrenos compactos es conveniente usar palas de punta o legones. Las plantas arrancadas se dejarán en el terreno durante 4-5 días (siempre que el clima lo permita) y posteriormente se trasladan en carretillas a los almacenes de clasificación y enristrado. A medida que e vayan recogiendo los bulbos se deberán limpiar de la tierra que tengan adheridas.

Después de la recolección y durante el periodo de selección, se irán apartando los bulbos mejor conformados, sanos y aquellas que respondan totalmente a las características de la variedad cultivada. A continuación se enristrarán y las ristras se colocarán bajo techo, en lugar bien seco y ventilado. Para sembrar una hectárea se necesitan alrededor de 700 kilogramos de bulbillos.

Composición Química.

El bulbo contiene aceite volátil sulfurado (33 compuestos como di, tri, tetrasulfuros), mucílagos, esteroides (aliina, alicina), glucósidos (fructosanas), minerales (zinc, cobre, germanio, magnesio, selenio), fosfolípidos, vitaminas (A, B1, C), nicotilamida, 17 aminoácidos (derivado de cisteina y cisteinglicina) y antocianinas (glucósido 3 de cianidina).

La planta completa contiene: Antraquinonas, alcaloides, taninos, triterpenos y esteroles insaturados, aceites esenciales.

Actividad Biológica.

Acción Antimicrobiana, Antifúngica y Antiparasitaria.

El poder bactericida de la alicina ha sido verificado sobre bacterias gram(+) y gram(-). El ajo presenta propiedades antibacterianas y sobre todo antifúngicas. Particularmente sobre dermatofitos y levaduras patógenas al hombre. En aplicación externa, favorece la curación de las llagas y muestra una actividad antiviral in vitro contra herpes simple e influenza B. Esta considerado como antiséptico pulmonar e intestinal.

Sistema cardiocirculatorio.

Este es un excelente depurador de sustancias tóxicas y por eso debemos tomarlo siempre que nos hayamos intoxicado, por ejemplo con mariscos o pescado. Disminuye notablemente los niveles de grasa como el colesterol, los

triglicéridos y el ácido úrico. Hace la sangre mas fluida, con lo cual previene la formación de trombos y coágulos.

Inhibe en la sangre el crecimiento y desarrollo de bacterias peligrosas como meningitis, tifus, difteria, neumonías y las responsables de diferentes abscesos. Actúa favoreciendo la disminución de glucosa en la sangre por lo que conviene a los diabéticos.

Regula la tensión arterial, sobre todo cuando esta alta debido a que produce vasodilatación, disminuye el número de latidos cardiacos, de ahí que sea muy útil para prevenir y curar anginas e infartos. Previene la arteriosclerosis con la formación de placas en las arterias.

Aparato Locomotor.

En la artrosis, osteoporosis, reumatismo, al favorecer la eliminación de residuos tóxicos de las articulaciones y aumentar la microcirculación con el consiguiente aumento de nutrientes y minerales al hueso y articulaciones.

Aparato Digestivo.

Es un antibiótico potente, elimina las bacterias perjudiciales y respeta la flora bacteriana (bacterianas intestinales buenas).

Elimina los gases intestinales y las putrefacciones. Favorece las digestiones al ayudar a las segregaciones salivares y gástricas. Previene y cura la apendicitis.

Mata toda clase de parásitos intestinales, tipo larvas y lombrices. Corta la

diarrea y es laxante en el caso de estreñimiento. Aumenta la secreción biliar y estimula su expulsión desde la vesícula al tubo digestivo.

Organos Sexuales.

En el caso de tener impotencia o frigidez, aumenta además el apetito sexual. En la mujer regula la menstruación. No usarlo si hay cualquier hemorragia o exceso de sangrado al menstruar.

Aparato Respiratorio.

Desinfecta todo: garganta, faringe, bronquios, útil en resfriados, bronquitis, neumonías. Expectorante y descongestionante. Bueno en el asma. Sirve para limpiar los efectos del tabaco nivel pulmonar.

Piel.

Cicatriza heridas que no cierran, aplicado externamente quita las verrugas, útil en el herpes y en los hongos externos e internos.

Sistema Endocrino.

Aumenta el funcionamiento de la glándula tiroides, por lo cual esta indicado en la obesidad y el hipotiroidismo.

Estimula la liberación a la sangre de la insulina por parte del páncreas por lo que ayuda en la diabetes a regular los niveles de glucosa.

Favorece la secreción de corticoides internos por las glándulas suprarrenales, de ahí la clave de todas sus propiedades, pues ya se sabe que la medicina utiliza los corticoides en procesos alérgicos, problemas pulmonares, reumatismos.

Sistema Inmunitario o Defensivo.

Fortifica las defensas frente a cualquier clase de infección (bacterias, virus, hongos, parásitos). También impide y previene cualquier clase de cáncer.

Aparato Urinario

Estimula la formación abundante de orina, con lo que ayuda a eliminar toxinas.

Sistema Nervioso.

Se sabe que el ajo es un antidepresivo por excelencia, debido a que aumenta enormemente la vitalidad, por consiguiente la calidad de vida. Mantiene la mente despejada y lúcida.

Toxicidad.

El ajo fresco tomado en grandes cantidades (más de tres dientes de ajo cada día) podría tener efectos tóxicos como diarrea, hinchamiento y fiebre. Más de ocho dientes de ajo podrían causar hemorragia gástrica. Por vía interna, la ingestión de varios dientes de ajo puede provocar quemaduras en el estómago e irritaciones de las vías urinarias en personas que presentan sensibilidad específica. Por vía externa los cataplasmas de extracto de ajo, a fuerte

concentración, pueden provocar necrosis de la piel, y actividad alérgica, que se ha comprobado también por administración interna del extracto acuoso, vía oral, en humanos sensibles y ratas.

La administración de dosis superiores a 25 mililitros del extracto del bulbo, por vía oral, provoca quemaduras severas en la mucosa de esófago y estómago en seres humanos.

3.4 GENERALIDADES DE LAS MICOSIS ⁽¹⁵⁾

La piel es más susceptible a los microorganismos capaces de resistir a una elevada presión osmótica y baja humedad. No es raro, por tanto, que los hongos causen varias enfermedades cutáneas. Cualquier infección fúngica del organismo es conocida como "micosis". Los hongos que colonizan los cabellos, las uñas y la capa externa (estrato córneo) de la epidermis se conocen como dermatofitos y dermatomicosis las infecciones que producen. Estos hongos crecen sobre la queratina que se encuentra en esos lugares causando las infecciones llamadas tiñas. Algunas de estas micosis son casi asintomáticas y su interés es fundamentalmente cosmético.

El vocablo tiña procede del latín *tinea*, larva de insecto, porque los romanos asociaron incorrectamente la enfermedad con los piojos.

La *Tinea capitis*, o tiña del cuero cabelludo, es bastante corriente en niños y pueden producir calvas o caída del cabello.

La tiña inguinal se conoce como *Tinea curis* y la del pie, o pie de atleta, como *Tinea pedis*.

3.5 CLASIFICACION DE LOS DERMATOFITOS ⁽¹⁾

Emmons, en 1934, clasificó los dermatofitos en tres géneros anamórficos (asexuales): *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*, clasificación que sigue aceptándose en la actualidad. Los teleomorfos de los dermatofitos se clasifican en un género, *Anthroderma*. Por otra parte, según la adaptación de cada una de las especies o variedades de estos hongos a diferentes animales u otros reservorios ecológicos se dividen, clásicamente, en especies geofílicas, zoofílicas y antropofílicas.

Los dermatofitos antropofílicos causan micosis sólo en el hombre, entre ellos: *Microsporum audouinii*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton violaceum*, *Epidermophyton floccosum*, etc.

Entre los dermatofitos zoofílicos, que originan micosis en los animales, a partir de los cuales se infecta el hombre, se pueden citar: *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, var. *mentagrophytes*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton equinum*, *Microsporum gallinae*, etc.

Por último, los geofílicos, especies que se encuentran en el suelo como saprófitos, nutriéndose de la queratina existente en él (pelos, escamas, plumas) y con quienes tanto el hombre como los animales se infectan directamente:

Microsporium gypseum, *Microsporium fulvum*, *Microsporium nanum*,
Microsporium cookei.

De las distintas especies antes citadas, *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum* son de distribución universal.

La localización y aspecto de la lesión orienta sobre la posible implicación de un determinado dermatofito.

Así, las especies pertenecientes al género *Microsporium* afecta al pelo y la piel, *Epidermophyton floccosum* invade la piel y uñas y *Trichophyton* infecta tanto el pelo como la piel y las uñas.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

Tipo de Estudio: Experimental e Hipotético Deductivo

La metodología se dividió en:

1. Investigación Bibliográfica
2. Investigación de Campo
3. Investigación de Laboratorio

1. Investigación Bibliográfica que se realizó en:

Biblioteca Central, Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador (UES)

Jardín Botánico La Laguna

Internet.

2. Investigación de Campo

Universo: Plantas Medicinales

Muestras: Extractos de hojas de *Cassia grandis* (carao) y bulbos de *Allium sativum* (ajo)

- 2.1 Recolección del Material Vegetal

Se recolectaron las hojas de carao en el Departamento de La Unión, ubicado a una altitud de ± 4 metros sobre el nivel del mar, y el ajo se recolectó en los sitios de cultivo ubicados en Izalco, Departamento de Sonsonate ubicado a una altitud de 350 metros sobre el nivel del mar.

2.2 Preparación del Material Vegetal

Las hojas de carao, se sometieron a lavado y luego se fraccionaron para obtener pedazos más pequeños.

Del bulbo de ajo se desprendieron cada uno de los “dientes” y se eliminó la cubierta.

3. Investigación de Laboratorio

3.1 Obtención de los extractos por el método de maceración

a) Se pesaron 500g de hojas de carao previamente fraccionadas y se colocaron en un balón de vidrio al cual se le agregó 1 litro de etanol a 70°. Se dejó en reposo durante 3 días, se filtró y luego se destiló el alcohol con ayuda de un rotavapor en el cual se mantuvo controlada la presión y la temperatura a 40 °C.

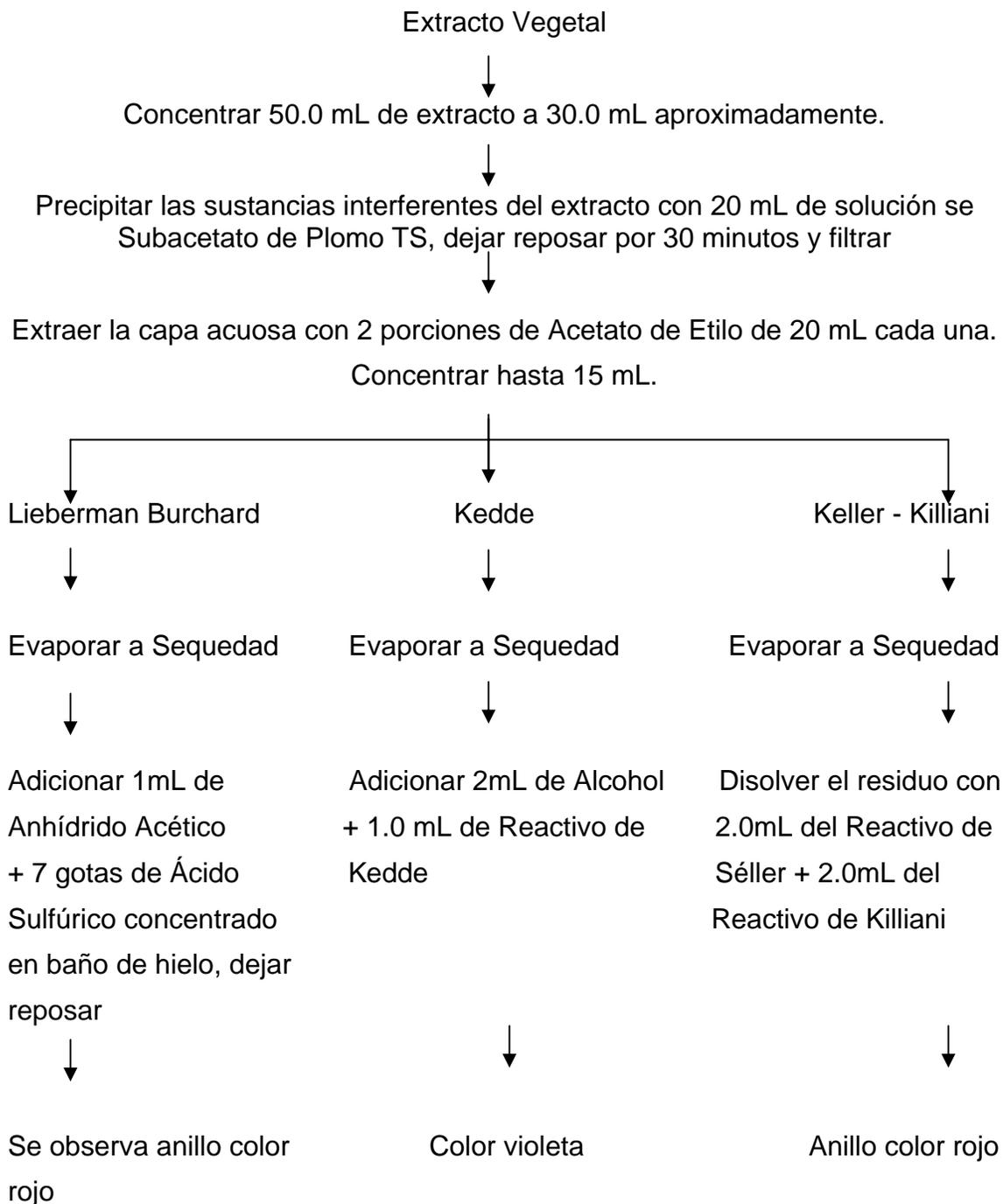
El extracto concentrado se guardó en un frasco ámbar y en condiciones de refrigeración.

b) Se pesaron 500g de “dientes de ajos” y se trituraron en un mortero hasta tener una pasta, se agregó 1L de etanol 70° y se dejó macerar por tres días. Se filtró y luego se concentró en rotavapor a una temperatura de 40°C y presión controlada. Se guardó en frasco color ámbar y en condiciones de refrigeración.

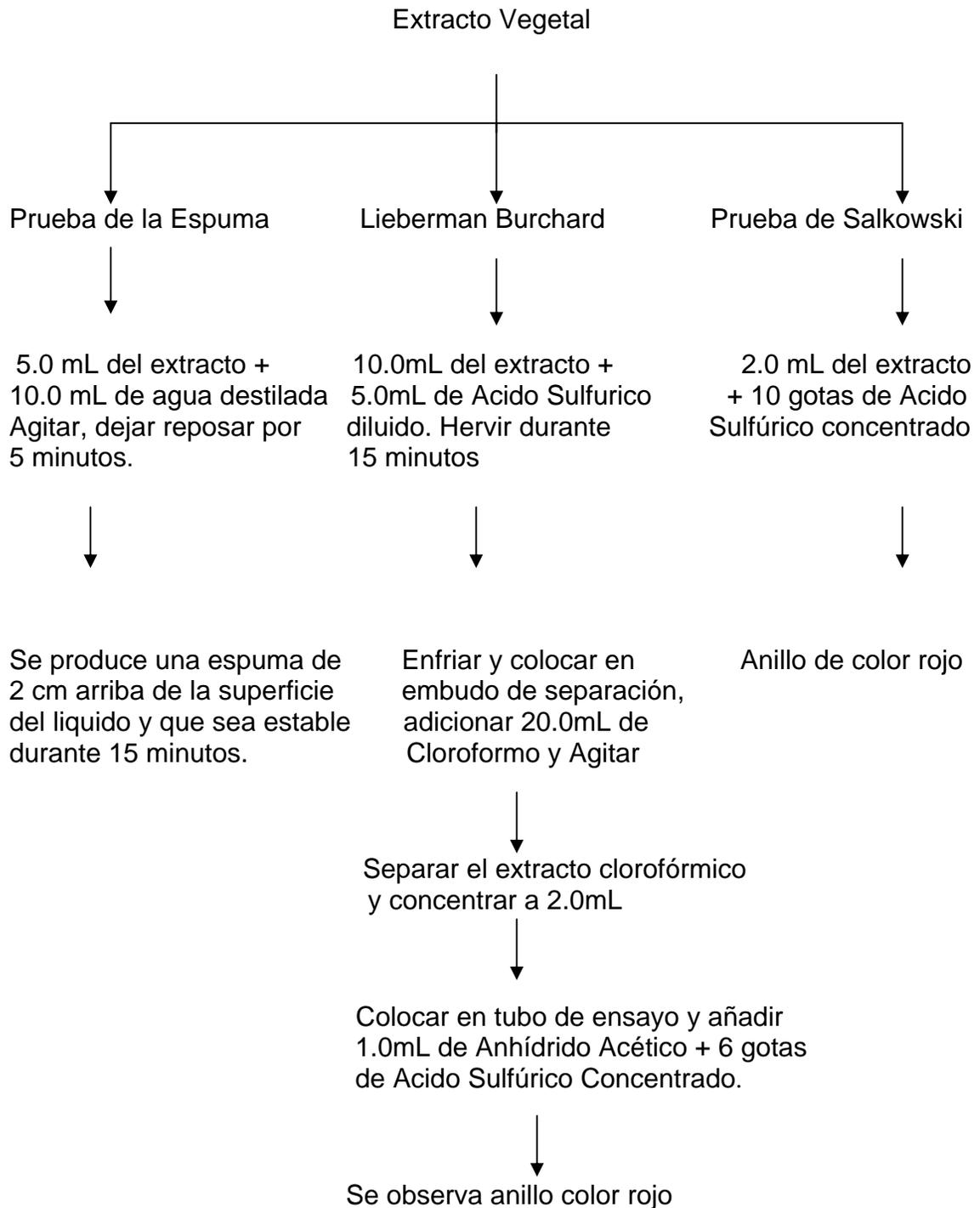
3.2 Métodos de análisis:

Análisis Fitoquímico Preliminar ⁽⁶⁾

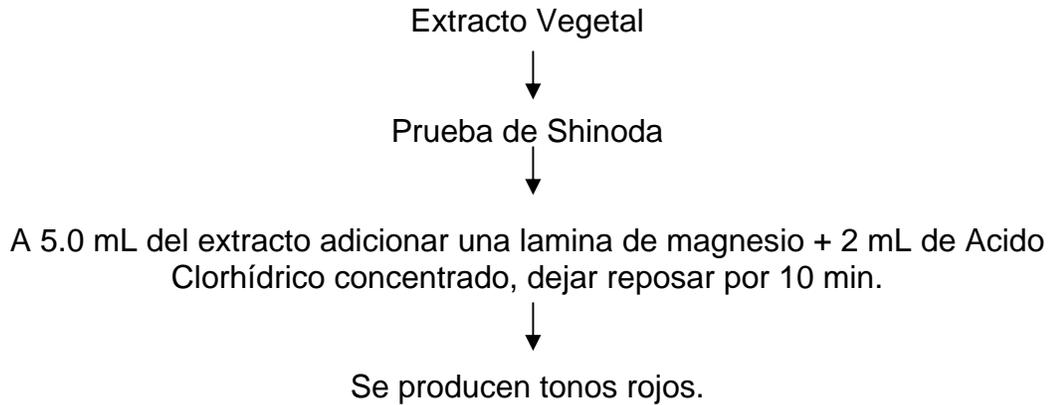
3.2.1 Ensayo para determinar Glicósidos Cardiotónicos.



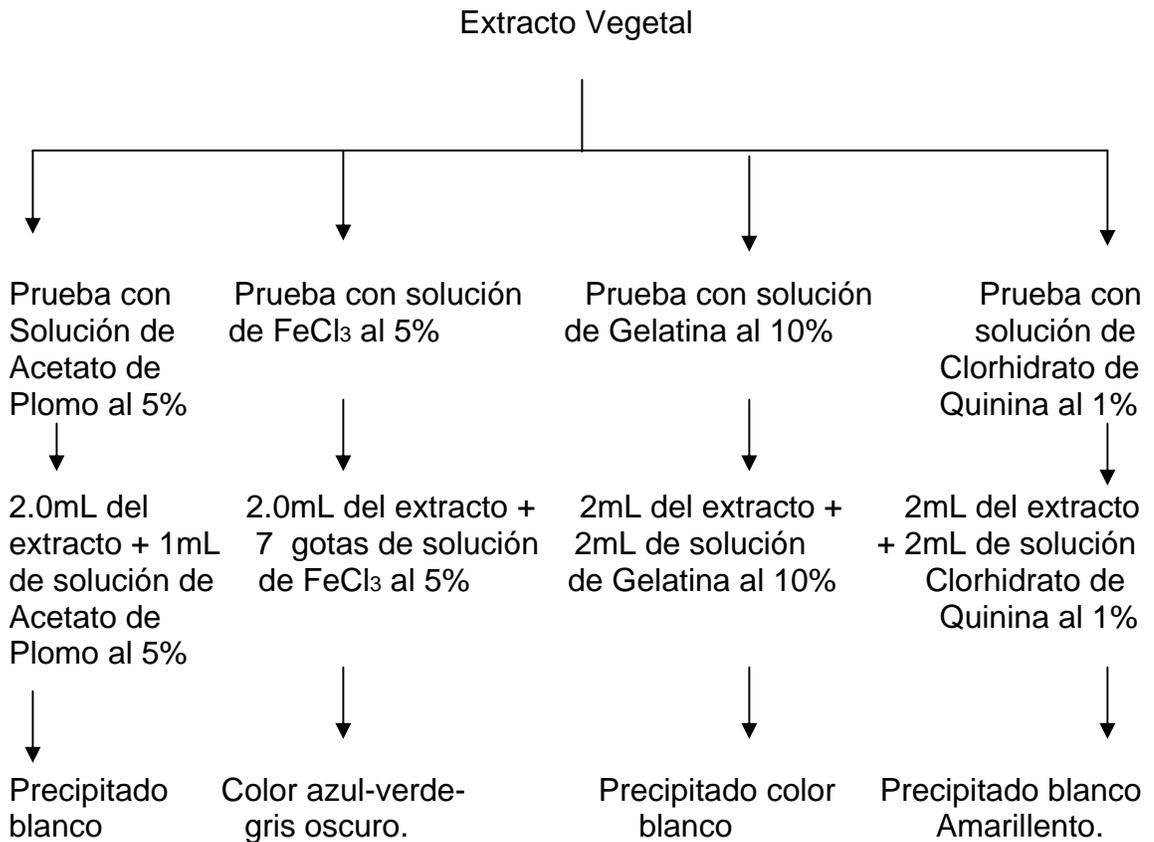
3.2.2 Ensayo para determinar glicósidos-saponínicos.



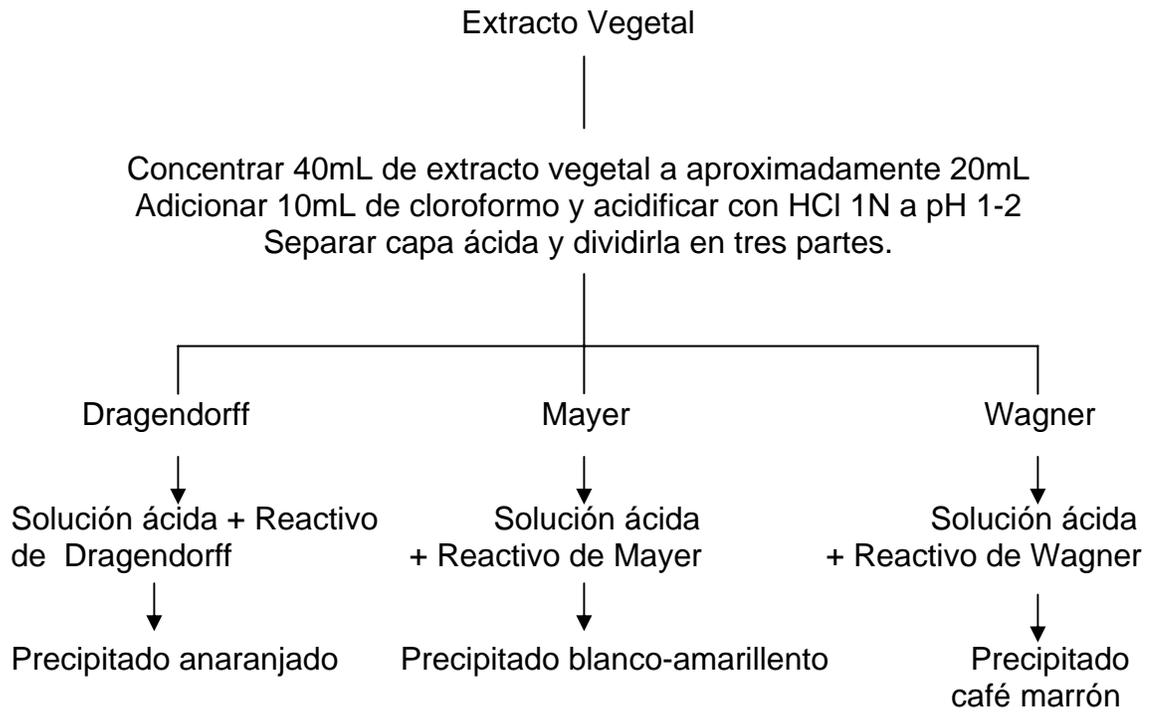
3.2.3 Ensayo para Determinar Flavonoides



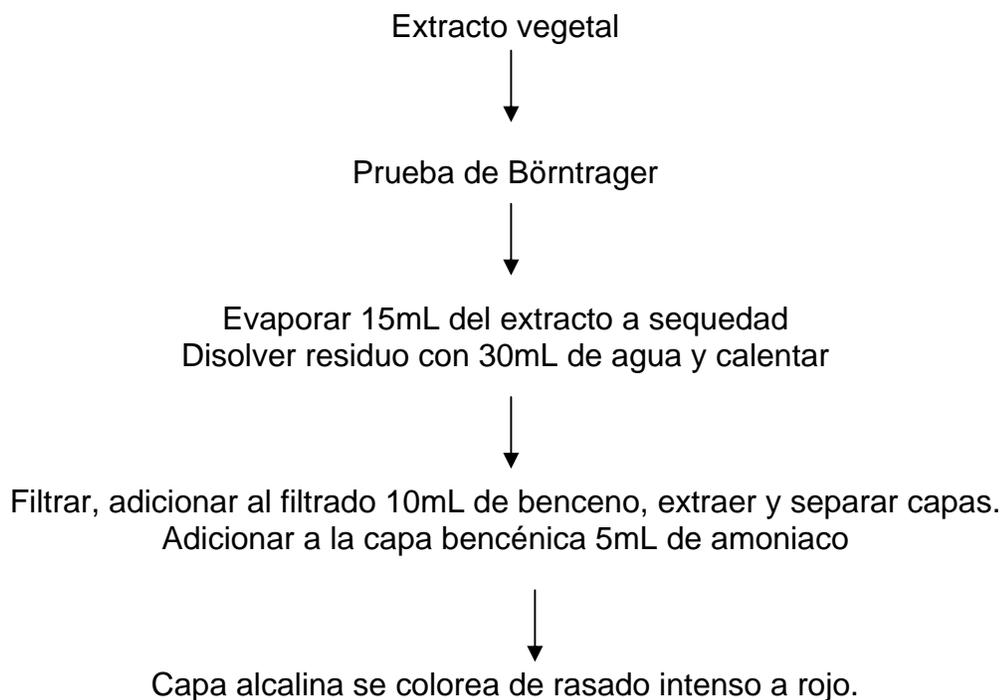
3.2.4 Ensayo para determinar Taninos.



3.2.6 Ensayo para determinar alcaloides



3.2.7 Ensayo para determinar Antraquinonas



3.3 Identificación de Alicina mediante Cromatografía en Capa Fina

Muestra: Extracto Macerado de Ajo

Estándar: Perla de Ajo GNC

Fase Estacionaria: Sílica Gel GF₂₅₄

Fase Móvil: Tolueno – Acetato de Etilo (93:7)

Reactivo Revelador: A. Vainillina al 1% en etanol

B. Acido Sulfúrico al 5% en etanol

Marcha Analítica de Cromatografía en Capa Fina

Colocar 5 μ L de una dilución 1 en 10 del extracto de ajo a 2.5 cm del borde inferior de la placa cromatográfica, dejando 4cm entre cada muestra y 3cm a ambos lados



Introducir la placa dentro de la cámara cromatográfica saturada con la fase móvil



Dejar que la fase móvil corra dos terceras partes de la placa y retirarla de la cámara



Colocar la placa cromatográfica a temperatura ambiente hasta secar y observar bajo una fuente de luz ultravioleta a una longitud de onda de 254nm



Observar la coloración de las manchas producidas por la muestra y el estándar



Rociar la placa con la solución B, esperar unos minutos, luego rociar con la solución A, dejar secar. Calentar la placa a 110°C por 5min hasta observar el apareamiento de manchas color violeta.



Medir las distancias desde el punto de inyección hasta el centro de cada una de las manchas generadas por la muestra

Medir la distancia desde el punto de inyección hasta la línea producida por el recorrido de la fase móvil (R_f)

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

3.4 Pruebas de Identificación Morfológica y Microscópica de los Hongos en Estudio.

3.4.1 ANALISIS MORFOLOGICO DE LAS COLONIAS ⁽⁸⁾

La identificación se efectúa, en primer lugar, por medio del examen morfológico de las colonias, para ello, sembrar cada uno de los hongos en placas de petri conteniendo agar saborau utilizando la técnica del hisopo. Incubar de 5-7 días a temperatura ambiente y observar las características morfológicas de las colonias.

Técnica del Hisopado

Utilizando un hisopo estéril, se tomó una colonia del hongo en estudio y se sembró sobre las placas de petri conteniendo agar saborau, de acuerdo al siguiente gráfico.

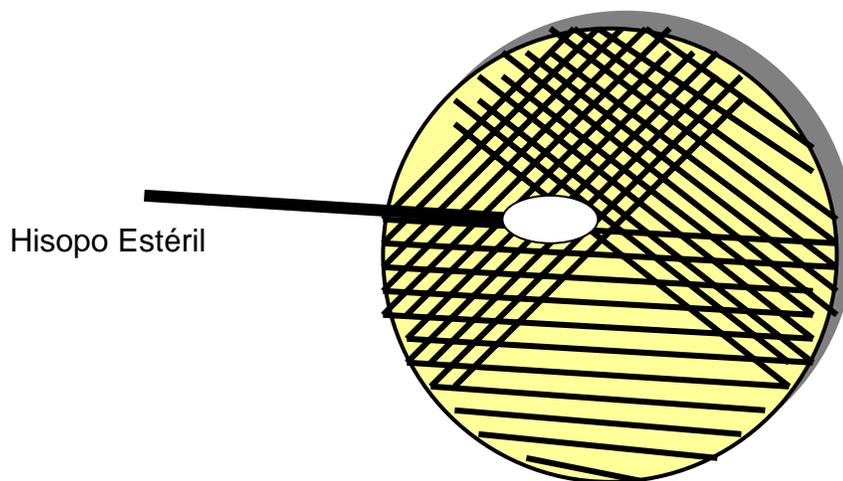


Figura No. 1: Técnica del Hisopado

3.4.2 ANALISIS MICROSCOPICO PRELIMINAR DE HONGOS ⁽⁹⁾

Se efectuó mediante un examen microscópico directo, para lo cual colocó una gota de solución de KOH al 10-20% en un portaobjeto y se mezcló una pequeña cantidad del hongo a examinar. A continuación, se pasó suavemente el portaobjeto a través de una llama baja de un mechero Bunsen, para facilitar aclaración, evitando que hierva.

Se observó al microscopio y detallaron las características que identifican a cada uno de los hongos según el cuadro siguiente:

Cuadro No. 1: CARACTERISTICAS DE LOS HONGOS EN ESTUDIO ⁽⁸⁾

ESPECIE	MORFOLOGIA DE LAS COLONIAS	CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS	OTRAS CARACTERISTICAS
<i>Microsporium Canis</i>	Colonias producen una superficie blanca, a tostado granular o vellosa. En la periferia del margen de crecimiento es típico observar un manto amarillo limón. Por lo general el reverso de las colonias es amarillo-naranja.	Las Microaleuriosporas tienen paredes gruesas, forma de huso, son multitabicadas y erizadas. Muchas poseen un extremo curvo característico. En general están dispersas y unidas lateralmente a las hifas.	Crece bien en medios de arroz. No presentan otras características específicas.
<i>Trichophyton rubrum</i>	Las colonias son generalmente blancas y de consistencia blanda, pero pueden ser rosadas o rojizas. Las cepas con esporulación densa presentan variantes coloniales granulares. El reverso a menudo es rojo vinoso a rojo-amarillo, en particular en agar –harina de maíz.	Las microaleuriosporas por lo común son producidas en profusión, tienen formas de lágrimas y nacen lateral e individualmente de las hifas. Por lo general no hay macroaleuriosporas y si las hay, son de paredes delgadas, lisas y con forma de cigarro.	La prueba de ureasa no es rápidamente positiva (puede verse un resultado debidamente positivo en 7 días). Prueba de carnada de pelo, negativa.
<i>Epidermophyton floccosum</i>	Las colonias son generalmente blancas y vellosas. Con la edad tienden al color caqui-marrón. Los centros de las colonias suelen estar plegados. El reverso es amarillo-marrón con pliegues visibles.	No producen microaleuriosporas. Las macroaleuriosporas son grandes, de paredes lisas, con forma de clava y divididas en 2 a 5 células. Nacen individualmente o en cúmulos de dos o tres elementos.	No presenta características especiales; puede ser confundido con <i>M. nanum</i> ; sin embargo, las macroaleuriosporas de esta especie son de paredes gruesas y erizadas.

3.5 DETERMINACION DE LA CONCENTRACION EFECTIVA DE LOS EXTRACTOS A 2000PPM POR EL METODO KIRBY BAHUER MODIFICADO SOBRE LOS HONGOS DE PRUEBA ⁽¹⁵⁾

La Concentración Efectiva es la concentración del extracto tomada como prueba inicial para el desarrollo del método, por referencias de investigaciones previas. ⁽¹⁶⁾

3.5.1 PREPARACION DE LOS EXTRACTOS

Pesar 20mg de cada uno de los extractos



Disolver en 2 ml de Dimetil Sulfóxido (DMSO)

(agitar hasta disolución)



Colocar en un balón volumétrico de 10ml



Aforar hasta llevar a volumen. ($[I]_{\text{final}} = 2000 \text{ ppm}$)

3.5.2 PREPARAR CONTROL POSITIVO DE KETOCONAZOL AL 1% Y 1.2%

Ketoconazol Materia Prima

Pureza: 100.3 %

Cálculos para obtener Ketoconazol al 100%

$$\begin{array}{rcl} 100\text{g de Ketoconazol} & \text{-----} & 100.3 \text{ g} \\ X & \text{-----} & 1.0 \text{ g} \end{array}$$

X = 0.997 g de Ketoconazol para preparar una solución al 1 %.

X = 1.196 g de Ketoconazol para preparar una solución al 1.2 %

Pesar 0.997g de Ketoconazol en balanza analítica y

Transferir a un balón volumétrico de 100mL



Disolver con 30mL de Dimetil Sulfóxido.



Aforar hasta llevar a volumen.

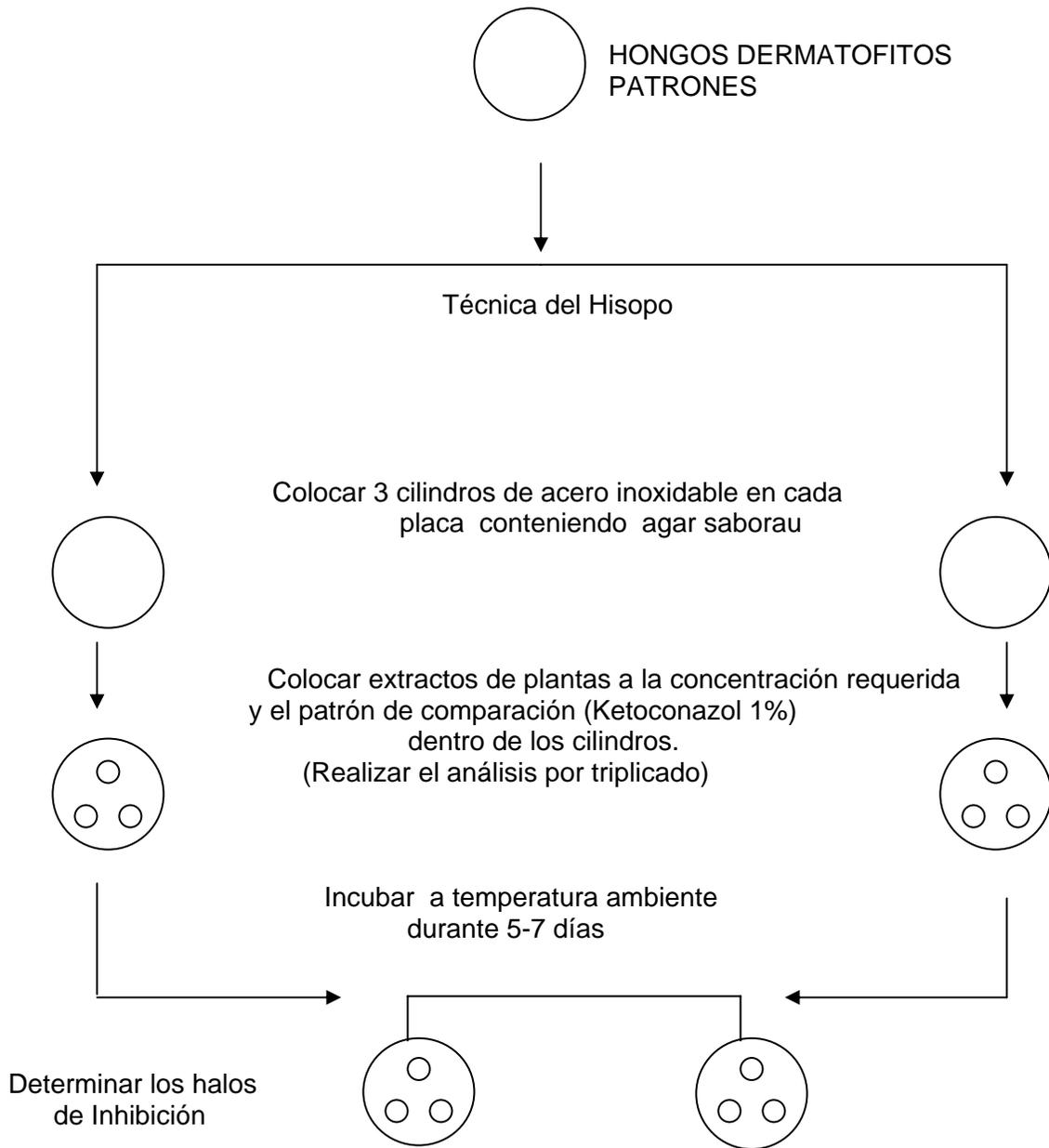
3.5.3 DESARROLLO DEL METODO KIRBY BAHUER MODIFICADO ^(12, 15)

Utilizando la técnica del hisopo se sembraron las cepas de *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum* en placas de petri conteniendo agar saborau, por triplicado, luego se procedió a colocar tres cilindros de acero inoxidable estériles en cada una de ellas. Con la ayuda de una pipeta pasteur, se colocó la solución preparada de los extractos dentro de los cilindros de acero inoxidable.

En otra placa se colocaron tres cilindros de acero inoxidable y dentro de ellos la solución del control positivo de Ketoconazol al 1%.

Se incubaron cada una de las placas a temperatura ambiente de 5-7 días y observó la aparición del halo de inhibición, luego se procedió a medir su diámetro.

Esquema del Método Kirby Bahuer Modificado. ⁽¹⁵⁾



3.5.4 FUNDAMENTO DEL METODO KIRBY BAUER MODIFICADO ⁽¹²⁾

El principio del método involucra la aplicación de una cantidad determinada del antimicrobiano en un cilindro de acero inoxidable colocado en la superficie del agar sobre la cual se ha distribuido un inóculo del microorganismo en cuestión; se formará así, por difusión, un gradiente de concentración de antimicrobiano alrededor del reservorio y la sensibilidad del microorganismo estará indicada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. El diámetro obtenido dependerá no sólo de la sensibilidad del microorganismo y la carga del disco, sino también del espesor de la capa de agar, su pH y composición, de la capacidad de difusión de la droga en ese medio, de la temperatura y atmósfera de incubación, de la velocidad de duplicación bacteriana, del tamaño del inóculo y la fase de crecimiento de la bacteria, etc. Todas estas son las variables más importantes que afectan el resultado.

Una vez colocado el cilindro en la superficie del agar, la difusión del antibiótico que contiene comienza instantáneamente y sigue hasta alcanzarse un gradiente continuo de concentraciones alrededor del reservorio. Este gradiente se alcanza aproximadamente a las 6 hrs. El tamaño de la zona de inhibición dependerá del equilibrio entre la difusión del antibiótico y la velocidad de crecimiento del microorganismo. Se recomienda colocar los cilindros dentro de los 15 minutos de inoculada la placa y luego proceder a la incubación.

3.6 DETERMINACION DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI) DE LOS EXTRACTOS POR EL METODO KIRBY BAHUER MODIFICADO SOBRE LOS HONGOS DE PRUEBA. ^(12, 15)

La Concentración Mínima Inhibitoria es la medida de la concentración más baja del extracto ensayado, necesaria para inhibir el crecimiento de los microorganismos. ⁽²⁰⁾

3.6.1 PREPARACION DE LOS EXTRACTOS

CONCENTRACION 2000ppm

Pesar 20 mg de cada extracto



Disolver con 2 mL de Dimetil Sulfóxido



Aforar a 10 mL.

(Concentración final: 2000ppm)

CONCENTRACION DE 1000ppm

Pesar 10 mg de cada extracto



Disolver con 2 mL de Dimetil Sulfóxido



Aforar a 10 mL.

(Concentración final: 1000ppm)

CONCENTRACION DE 500 ppm

Tomar 5 mL de la solución 1000ppm



Transferir a un balón volumétrico de 10 mL



Llevar a volumen con Dimetil Sulfóxido

(Concentración final: 500ppm)

CONCENTRACION DE 250 ppm

Tomar 5 mL de la solución 500ppm



Transferir a un balón volumétrico de 10 mL



Llevar a volumen con Dimetil Sulfóxido

(Concentración final: 250ppm)

CONCENTRACION DE 150 ppm

Tomar 15mL de una solución de 1000ppm



Transferir a un balón volumétrico de 100 mL



Llevar a volumen con Dimetil Sulfóxido

(Concentración final: 150ppm)

CONCENTRACION DE 100ppm

Tomar 1 mL de la solución 1000ppm



Transferir a un balón volumétrico de 10 mL



Llevar a volumen con Dimetil Sulfóxido

(Concentración final: 100ppm)

CONCENTRACION DE 50 ppm

Tomar 1 mL de la solución 500ppm



Transferir a un balón volumétrico de 10 mL



Llevar a volumen con Dimetil Sulfóxido

(Concentración final: 50ppm)

3.7 OBTENCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA (CMF) DE LOS EXTRACTOS POR MEDIO DEL MÉTODO KIRBY BAUER MODIFICADO SOBRE LOS HONGOS DE PRUEBA ^(12, 15)

La Concentración Mínima Fungicida es la concentración del extracto ensayado necesaria para reducir el crecimiento del hongo en un 99.99%

3.7.1 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

CONCENTRACION 2000ppm

Pesar 20 mg de cada extracto



Disolver con 2 mL de Dimetil Sulfoxido



Aforar a 10 mL.

(Concentración final: 2000ppm)

CONCENTRACION DE 4000ppm

Pesar 40 mg de cada extracto



Disolver con 2 mL de Dimetil Sulfoxido



Aforar a 10 mL.

(Concentración final: 4000ppm)

CONCENTRACION 6000ppm

Pesar 60 mg de cada extracto



Disolver con 2 mL de Dimetil Sulfoxido



Aforar a 10 mL.

(Concentración final: 6000ppm)

CONCENTRACION 8000ppm

Pesar 80 mg de cada extracto



Disolver con 2 mL de Dimetil Sulfóxido



Aforar a 10 mL.

(Concentración final: 8000ppm)

CONCENTRACION 10,000ppm

Pesar 100 mg de cada extracto



Disolver con 2 mL de Dimetil Sulfóxido



Aforar a 10 mL.

(Concentración final: 10,000ppm)

CONCENTRACION 12,000ppm

Pesar 120 mg de cada extracto



Disolver con 2 mL de Dimetil Sulfóxido



Aforar a 10 mL.

(Concentración final: 12,000ppm)

3.8 INTERPRETACION DE RESULTADOS ANTIFUNGICOS PARA LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA.

Según especificaciones de la Asociación Argentina de Fitomedicina ⁽²²⁾, los resultados teóricos de la medición de los halos de inhibición en la Concentración Mínima Inhibitoria son los siguientes:

POSITIVO	Si el radio del halo es mayor a 9mm (diámetro mayor a 18mm)
ACTIVIDAD INTERMEDIA	Si el radio del halo es de 6 – 9mm (diámetro entre 12 – 18mm)
NEGATIVO (SIN ACTIVIDAD)	Si el radio del halo es inferior a 6mm (diámetro inferior a 12mm)

CAPITULO V
RESULTADOS

5.0 RESULTADOS

Cuadro No. 2: CRUADRO DE RESULTADOS DEL ANALISIS FITOQUIMICO PRELIMINAR EN LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO

COMPONENTE QUIMICO	PRUEBA REALIZADA	RESULTADOS	
		EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE BULBOS DE AJO
Glicósidos Cardiotónicos	Lieberman Burchard Kedde Kéller - Killiani	-	-
Glicósidos Saponínicos	Prueba de la Espuma Lieberman Burchard Salkowski	+	-
Flavonoides	Shinoda	+	-
Taninos	Solución de Subacetato de Plomo 5% Solución de FeCl ₃ al 5% Solución de Gelatina Solución de Clorhidrato de Quinina	+	+
Sesquiterpelactonas	Baljet Legal Hidroximatos Férricos	+	-
Antraquinonas	Prueba de Borntrager	+	+
Alcaloides	Mayer Wagner Dragendorff	+	+

(+) Indica presencia del metabolito secundario en el extracto

(-) Indica ausencia del metabolito secundario en el extracto

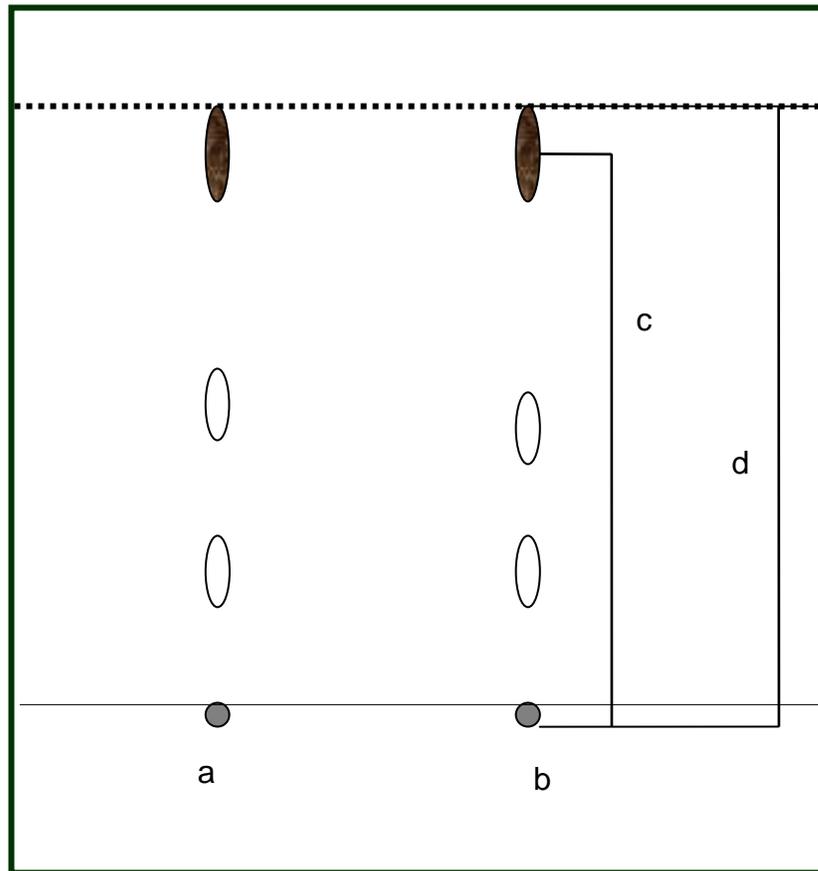


Figura No. 2 RESULTADOS DE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA PARA LA ALICINA PRESENTE EN EL AJO.

Resultados:

a = Muestra Extracto de Ajo

b = Perla de Ajo

$$R_{f\ a} = \frac{c}{d} = \frac{14}{15} = 0.933$$

$$R_{f\ b} = \frac{13.8}{15} = 0.920$$

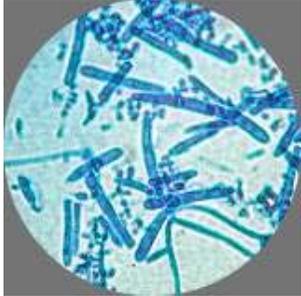
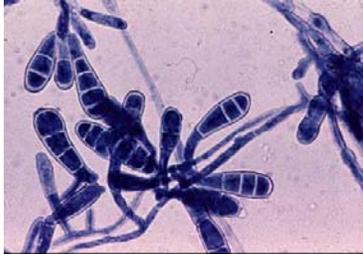
Fase Móvil que se utilizó: Tolueno – Acetato de Etilo (93:7)

Reactivo Revelador: Solución de Vainillina al 1% en Etanol – Acido Sulfúrico al 5% en Etanol.

Cuadro No. 3 RESULTADOS DE LA IDENTIFICACION MORFOLOGICA DE LAS COLONIAS DE LOS HONGOS EN ENSAYO

HONGO	CARACTERISTICAS SEGÚN BIBLIOGRAFIA ⁽⁸⁾	RESULTADOS DE LA OBSERVACION
<i>Microsporium canis</i>	Superficie de la colonia blanca, vellosa, reverso de la colonia se observa un color amarillo-naranja.	 <p>Corresponde según bibliografía</p>
<i>Trichophyton rubrum</i>	Colonias blancas y de consistencia blanda, reverso presenta color rojo vinoso.	 <p>Corresponde según bibliografía</p>
<i>Epidermophyton floccosum</i>	Colonias blancas y vellosas. Con la edad tienden al color caqui o marrón, los centros de las colonias forman pliegues. Reverso es amarillo-marrón con pliegues visibles.	 <p>Corresponde según bibliografía</p>

**Cuadro No. 4 RESULTADOS DE LA IDENTIFICACION MICROSCOPICA DE
LOS HONGOS EN ENSAYO**

HONGO	CARACTERISTICAS SEGÚN BIBLIOGRAFIA ⁽⁸⁾	RESULTADOS DE LA OBSERVACION
<i>Microsporium canis</i>	<p>Posee microaleuriosporas con extremo curvo característico.</p> <p>En general están dispersas y unidas lateralmente a las hifas</p>	 <p>Corresponde según bibliografía</p>
<i>Trichophyton rubrum</i>	<p>Microaleuriosporas poseen forma de lágrimas y nacen lateralmente de las hifas.</p>	 <p>Corresponde según bibliografía</p>
<i>Epidermophyton floccosum</i>	<p>Paredes lisas divididas de dos a cinco células.</p> <p>Se observan en forma individual o en cúmulos de dos o tres elementos.</p>	 <p>Corresponde según bibliografía</p>

**Cuadro No. 5 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION EFECTIVA DE LOS
EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO A
2000ppm***

CONCENTRACION DE 2000ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de halo de inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	21	36
<i>Trichophyton rubrum</i>	22	35
<i>Epidermophyton floccosum</i>	20	32

* Estas determinaciones se efectuaron por triplicado y los datos representan el promedio de las tres pruebas.

Cuadro No. 6 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA A 2000ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 2000ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	21	36
<i>Trichophyton rubrum</i>	22	35
<i>Epidermophyton floccosum</i>	20	32

Cuadro No. 7 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA A 1000ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 1000ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	20	35
<i>Trichophyton rubrum</i>	20	35
<i>Epidermophyton floccosum</i>	18	29

* Estas determinaciones se efectuaron por triplicado y los datos representan el promedio de las tres pruebas.

Cuadro No. 8 RESULTADO DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA A 500ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 500ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	17	34
<i>Trichophyton rubrum</i>	16	33
<i>Epidermophyton floccosum</i>	15	23

Cuadro No. 9 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA A 250ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 250ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	16	29
<i>Trichophyton rubrum</i>	15	30
<i>Epidermophyton floccosum</i>	12	20

* Estas determinaciones se efectuaron por triplicado y los datos representan el promedio de las tres pruebas.

Cuadro No.10 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA A 150ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 150ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	-	15
<i>Trichophyton rubrum</i>	-	15
<i>Epidermophyton floccosum</i>	-	14

(-) = no hubo inhibición

Cuadro No.11 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA A 100ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 100ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	-	11
<i>Trichophyton rubrum</i>	-	12
<i>Epidermophyton floccosum</i>	-	10

(-) = no hubo inhibición

- * Estas determinaciones se efectuaron por triplicado y los datos representan el promedio de las tres pruebas.

Cuadro No.12 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA A 50ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 50ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporum canis</i>	-	-
<i>Trichophyton rubrum</i>	-	-
<i>Epidermophyton floccosum</i>	-	-

(-) = no hubo inhibición

* Estas determinaciones se efectuaron por triplicado y los datos representan promedio de las tres pruebas.

Cuadro No.13 CUADRO RESUMEN DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO ANTE LOS MICROORGANISMOS DE PRUEBA.

RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA*		
Microorganismo de Prueba	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	250ppm	150ppm
<i>Trichophyton rubrum</i>	250ppm	100ppm
<i>Epidermophyton floccosum</i>	250ppm	150ppm

* Según especificaciones de la Asociación Argentina de Fitomedicina.⁽²²⁾

Cuadro No.14 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA FUNGICIDA A 2000ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 2000ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	21	36
<i>Trichophyton rubrum</i>	22	35
<i>Epidermophyton floccosum</i>	20	32

Cuadro No.15 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA FUNGICIDA A 4000ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 4000ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	22	39
<i>Trichophyton rubrum</i>	23	36
<i>Epidermophyton floccosum</i>	21	33

* Estas determinaciones se efectuaron por triplicado y los datos representan el promedio de las tres pruebas.

Cuadro No.16 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA FUNGICIDA A 6000ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 6000ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	24	40
<i>Trichophyton rubrum</i>	24	36
<i>Epidermophyton floccosum</i>	22	35

Cuadro No.17 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA FUNGICIDA A 8000ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 8000ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	24	43
<i>Trichophyton rubrum</i>	25	39
<i>Epidermophyton floccosum</i>	24	35

* Estas determinaciones se efectuaron por triplicado y los datos representan el promedio de las tres pruebas.

Cuadro No.18 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA FUNGICIDA A 10000ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 10000ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporum canis</i>	32	Inhibición del 99.99%
<i>Trichophyton rubrum</i>	33	Inhibición del 99.99%
<i>Epidermophyton floccosum</i>	33	Inhibición del 99.99%

Cuadro No.19 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA FUNGICIDA A 12000ppm DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO*

CONCENTRACION DE 12000ppm		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporum canis</i>	Inhibición del 99.99%	Inhibición del 99.99%
<i>Trichophyton rubrum</i>	Inhibición del 99.99%	Inhibición del 99.99%
<i>Epidermophyton floccosum</i>	Inhibición del 99.99%	Inhibición del 99.99%

* Estas determinaciones se efectuaron por triplicado y los datos representan el promedio de las tres pruebas.

Cuadro No. 20 CUADRO RESUMEN DE LA CONCENTRACION MINIMA FUNGICIDA DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE CARAO Y BULBOS DE AJO ANTE LOS MICROORGANISMOS DE PRUEBA.

RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA FUNGICIDA*		
MICROORGANISMOS DE PRUEBA	EXTRACTO DE HOJAS DE CARAO	EXTRACTO DE AJO
<i>Microsporium canis</i>	12,000ppm**	10,000ppm**
<i>Trichophyton rubrum</i>	12,000ppm	10,000ppm
<i>Epidermophyton floccosum</i>	12,000ppm	10,000ppm

* Estos resultados indican la inhibición del hongo en un 99.99%

** 10,000 ppm \equiv 10 mg/mL \equiv 1%

12,000ppm \equiv 12mg/mL \equiv 1.2%

Cuadro No. 21 RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA FUNGICIDA A 10,000ppm Y 12,000ppm DEL CONTROL POSITIVO DE KETOCONAZOL ANTE LOS HONGOS EN ESTUDIO

CONCENTRACION DE 10,000ppm Y 12,000PPM		
Microorganismo de Prueba	Diámetro de Halo de Inhibición (mm)	
	10,000ppm (1 %)	12,000ppm (1.2%)
<i>Microsporium canis</i>	43	No hubo crecimiento
<i>Trichophyton rubrum</i>	No hubo crecimiento	No hubo crecimiento
<i>Epidermophyton Floccosum</i>	40	No hubo crecimiento

CAPITULO VI
ANALISIS DE RESULTADOS

6.0 ANALISIS DE LOS RESULTADOS.

Dentro de los objetivos del presente trabajo está el determinar la actividad fungicida de los extractos de hojas de carao y bulbos de ajo, ya que a pesar de ser el ajo una planta milenaria y con muchas investigaciones, según la revisión bibliográfica, solo se menciona la actividad antifúngica pero no sobre que hongos ni sus cantidades, además, las hojas de carao son mencionadas dentro de la medicina popular como fungicidas sin tener datos científicos que lo comprueben, es por esa razón que esta investigación trata de reflejar los datos experimentales obtenidos.

Para poder realizar la determinación antimicótica, primero se obtuvieron los extractos hidroalcohólicos y luego fueron determinados los análisis fitoquímicos preliminares de cada uno de ellos con el objetivo de comprobar que metabolitos secundarios estaban presentes, ya que a estos se deben sus características físico-químicas y también medicinales. En el Cuadro No. 2 se muestran los metabolitos presentes en cada uno de ellos, de ahí que en el extracto de hojas de carao se encontraron: glicósidos saponinicos, flavonoides, taninos, sesquiterpelactonas, antraquinonas, y alcaloides, así como en el extracto de los bulbos de ajo solamente taninos, antraquinonas y alcaloides.

Estas pruebas son cualitativas o sea que en ningún momento se expresa cantidad encontrada en ellos.

En el Cuadro No. 3 se presentan los resultados de la identificación morfológica de las colonias de los hongos en ensayo que se deben realizar para tener la seguridad de que son los microorganismos con los cuales se trabajará, según la bibliografía presentan características definidas cada uno de ellos, esto se puede comprobar mediante la observación visual directa correspondiendo según lo descrito en la bibliografía, además para tener la mayor seguridad de que se trataba de: *Microsporium canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum* se verificaron también la identificación microscópica que al compararlos con las características bibliográficas coincidieron. (Ver Cuadro No.4)

Con los hongos ya identificados se procedió a realizar la concentración efectiva de ambos extractos a 2000ppm como punto de partida para el resto de los demás ensayos. Llevando como control positivo el Ketoconazol al 1% (10,000ppm), según el Cuadro No. 5 los halos de inhibición del extracto de ajo fueron mayores que los de carao y tomando en cuenta las especificaciones de la Asociación Argentina de Fitomedicina en donde se toma como positivo un diámetro mayor a 12 -18mm, se puede decir que ambos extractos mostraron resultados positivos sobre ambos extractos.

La concentración mínima inhibitoria de ambos extractos se verificó partiendo de 2000ppm hasta encontrar la concentración mínima de los extractos necesaria para inhibir el crecimiento de los microorganismos.

En ambos casos se realizaron ensayos desde 2000ppm hasta 50ppm tomando siempre como control positivo el Ketoconazol al 1% (10,000ppm). (Ver Cuadros No. 6 al 12).

El extracto de carao mostró una Concentración Mínima Inhibitoria para *Microsporum canis* a una concentración de 250ppm y un diámetro del halo de 16mm, para el *Trichophyton rubrum* a 250ppm con un diámetro del halo de 15mm y para *Epidermophyton floccosum* a 250ppm y 12mm (Cuadro No. 13)

Se puede concluir que la concentración mínima inhibitoria del carao para los tres hongos fue a la misma concentración y mostrando similitud en los halos de inhibición. 250ppm del extracto equivalen a 2.5 mg/mL lo que significa que a bajas concentraciones el extracto de carao esta ejerciendo inhibición en ellos.

El extracto de ajo para *Microsporum canis* y *Epidermophyton floccosum* la concentración mínima inhibitoria fue de 150ppm presentando diámetros de halo de 15mm y 14mm respectivamente, en el *Trichophyton rubrum* la concentración mínima inhibitoria fue de 100ppm con un diámetro de inhibición de 12mm, lo que significa que con el ajo la inhibición se logró a concentraciones mucho mas bajas, es decir en 1.5mg/mL y 1.0mg/mL

Luego de efectuar la Concentración Mínima Inhibitoria se procedió a realizar la Concentración Mínima Fungicida que es la concentración del extracto necesaria para reducir el crecimiento del hongo en un 99.99%. Se inició la determinación desde 2000ppm hasta 12000ppm estos resultados se muestran en los Cuadros

No. 14, 15, 16, 17, 18, 19. Observándose siempre que el extracto de ajo siempre dio mayores halos de inhibición que el extracto de carao.

El Cuadro No. 20 resume los resultados de la actividad fungicida, observándose que con el extracto de carao ya no hubo crecimiento de los hongos a 12,000ppm que equivale a 12mg/mL de extracto o 1.2% y en el caso del ajo la Concentración Mínima Fungicida fue a 10,000ppm en los tres casos lo cual equivale a 10mg/mL ó 1%.

En el cuadro No. 21 se muestran los resultados de la Concentración Mínima Fungicida a 10,000ppm y 12,000ppm del control positivo de Ketoconazol en donde se observa que a 10,000ppm solamente al *Trichophyton rubrum* el Ketoconazol lo inhibió en un 99.99%, no así en los otros dos hongos: *Microsporum canis* y *Epidermophyton floccosum*, por lo cual se procedió hacer la determinación a 12,000ppm equivalente a 1.2%, con la cual el Ketoconazol inhibió el crecimiento en un 99.99% de los tres hongos.

Comparándose los resultados obtenidos de los extractos con el control positivo se puede decir que la concentración de 10,000ppm del ajo inhibió en un 99.99% de todos los hongos, no así el ketoconazol a la misma concentración ya que solamente *Trichophyton rubrum* experimentó una inhibición total. Esto indica que el ajo posee una actividad fungicida a concentración bien baja, lo cual representa una alternativa natural para todas las patologías que involucran estos tres hongos. En el caso del extracto de carao se obtuvo inhibición total a

12,000ppm con los tres hongos de prueba al igual que se logró con el Ketoconazol a la misma concentración.

Según investigaciones realizadas se ha comprobado que los hongos de prueba están experimentando resistencia al Ketoconazol, ya que la mayoría de los productos están formulados al 1.0%, los resultados del presente trabajo confirman tal situación, por esta razón los nuevos productos están siendo formulados al 2.0% comprobándose esto con el cuadro No. 21

La efectividad de los extractos se debe al sinergismo existente en sus componentes Químicos, Cuadro No. 2, en donde para el caso del carao la presencia de taninos y sesquiterpelactonas, son conocidos por poseer actividades antifúngicas, además de la aloe-emodina un compuesto antraquinónico presente en el carao al cual la bibliografía lo reporta como el responsable de la actividad antifúngica. El resto de los componentes posiblemente acompañan a estos en su actividad.

En el caso del ajo también la sinergia entre taninos, antraquinonas y alcaloides, encontrados en el extracto (Cuadro No. 2), podrían estar dando su actividad, y según la revisión bibliográfica la responsable de la actividad fungicida y el aroma es la alicina; la cual se forma cuando el ajo es cortado y triturado. Es un compuesto sulfurado reconocido por su actividad antimicrobiana, la figura No.2 muestra su identificación mediante la técnica de cromatografía en capa fina. Los resultados obtenidos comprueban la actividad fungicida de dos plantas de

las cuales la revisión bibliográfica no daba mayores detalles, enriqueciendo con esto las monografías de ambas plantas en sus actividades biológicas.

Además el conocimiento popular sobre ellos ya especificaba su actividad antifúngica, con estos resultados también se puede decir que el conocimiento transmitido de generación a generación en muchos de los casos es verdadero.

CAPITULO VII
CONCLUSIONES

7.0 CONCLUSIONES

1. Las pruebas fitoquímicas realizadas al extracto alcohólico de hojas de carao mostraron componentes como: glicósidos saponínicos, flavonoides, taninos, sesquiterpelactonas, antraquinonas y alcaloides; mientras que para el ajo fueron: taninos, antraquinonas y alcaloides.
2. El extracto de hojas de carao presenta actividad antifúngica contra: *Microsporun canis*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* in vitro, esta actividad es debido al contenido de aloe-emodina en su composición química, la cual es una antraquinona ácida.
3. La Concentración Efectiva Evaluada fue de 2000 ppm para ambos extractos.
4. El extracto de bulbos de ajo presenta actividad antifúngica contra: *Microsporun canis*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* in vitro, esta actividad es debido a la alicina presente, la cual según datos bibliográficos es la responsable de tal efecto en los dermatofitos.

5. La evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria ejercida *in vitro*, por el extracto de bulbos de ajo en *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*, es de 150 ppm, y para *Trichophyton rubrum* fue de 100 ppm.
6. La Concentración Mínima Inhibitoria presentada por el extracto de hojas de carao ante *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* es de 250 ppm, y de 500 ppm ante *Epidermophyton floccosum*.
7. La Concentración Mínima Fungicida presentada por el extracto de hojas de carao ante los dermatofitos evaluados es de 12000 ppm, mientras el extracto de bulbos de ajo presenta 10000 ppm. Esta determinación demuestra que estas concentraciones de extractos fueron capaces de matar a los microorganismos *in vitro* en un 99.99%.
8. Según los resultados obtenidos el extracto de ajo presenta una concentración mínima fungicida de 12,000 ppm ante los hongos evaluados al igual que el control positivo de ketoconazol.
9. Se concluye que la reproducibilidad del Método Kirby Bahuier Modificado se ve afectada por la capacidad de difusión de los extractos, la velocidad del crecimiento de los hongos y del espesor del medio de cultivo en la placa de petri.

10. Que la sensibilidad de los hongos ante los extractos aumenta a medida que la concentración se incrementa y de igual manera se ve disminuida si la concentración decrece.
11. Con este estudio queda confirmada la actividad fungicida que poseen los extractos de hojas de carao y bulbos de ajo, conocida de uso popular.
12. Se concluye con este trabajo que el extracto de ajo y el extracto de hojas de carao son una alternativa natural para la población y puedan sustituir los productos con Ketoconazol, los cuales para muchas personas no están al alcance de sus recursos económicos.

CAPITULO VIII
RECOMENDACIONES

8.0 RECOMENDACIONES

1. Realizar un análisis cuali-cuantitativo mas detallado de estas plantas, que permita la identificación, separación y cuantificación de los componentes activos responsables de la actividad antifúngica en los dermatofitos demostrada en este estudio.
2. En base a los resultados obtenidos se recomienda la incorporación de los extractos a formas farmacéuticas que ayuden al tratamiento de las tiñas causadas por los hongos evaluados como una alternativa natural a los cuales además se les realicen sus estudios de estabilidad y su etapa clínica.
3. Previo a la evaluación de susceptibilidad se recomienda siempre realizar un estudio macro y microscópico de las cepas, esto con el fin de verificar la pureza de las mismas.
4. De acuerdo a los resultados obtenidos se recomienda promover la propagación y cultivo de estas especies vegetales para poder generar ingresos a personas que se dedican al agrocultivo.
5. Promover el estudio de otras plantas de las cuales popularmente se conozca posean propiedades antifúngicas.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. CABALLERIA, A. S. y otros. Unidad de Microbiología del Hospital Arnau de Vilanova, Valencia, España, 2000.
2. CACERES, A. Plantas Medicinales en Guatemala. Editorial Universitaria. 1996.
3. CACERES, A. Plantas medicinales en Guatemala, Universidad de San Carlos, Guatemala, Editorial Universitaria.
4. CASTAÑO GARCIA, M.T. y otros. Monografías Farmacéuticas. Colegio Oficial de Farmacéuticos de la Provincia de Alicante.
5. DIGESTYC (Dirección General de Estadística y Censo), Ministerio de Economía. Encuesta de Hogares de Propósitos Múltiples, 2000.
6. DOMINGUEZ, X.A. Métodos de Investigación Fotoquímica, 1ª Edición, Editorial Limusa, México, 1973.
7. GERMOSEN-ROBINEAU, L. Farmacopea Caribeña. Primera Edición. Santo Domingo, 1996.
8. GOMEZ, M.J. y otros. Microbiología Médica. Mc Graw-Hill Interamericana de Venezuela, 5ta Edición, 1997.
9. HALDENE JM, Robert, E. Comparison of Calcofluor White, Potassium Hydroxide, and Cultura for the Laboratory Diagnosis of Superficial Fungal Infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1990.
10. LEMUS, C. 1950 "El Carao (*Cassia grandis*)". Trabajo de Graduación Lic. Qca y Fcia. San Salvador, Universidad de El Salvador.

11. Centro Nacional de Medicina Popular Tradicional, Manual de Plantas Medicinales Para el Promotor de Medicina Preventiva y Salud Comunitaria, Managua, Nicaragua.
12. Ministerio de Salud, Secretaría de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbran" Ar. 2003. Prueba de Sensibilidad a los Antimicrobianos Parte II, Buenos Aires, Argentina.
13. MURRAY, Patrick R. Manual of Clinical Microbiology, Sixth Edition. American Society for Microbiology, Washington 1995.
14. SOSA GOMEZ, R. "Poder Medicinal de las Planta". Asociación Publicadora Interamericana APIA. Segunda Impresión, Madrid, España, 1997.
15. TORTORA, G. Introducción a la Microbiología. 3ª Edición. Zaragoza, España, 1993.
16. TOLEDO, R. Búsqueda de Actividad Biológica Mediante Bioensayos Simples. Proyecto de Investigación. Sección de Investigación Aplicada y Tesis Profesional de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
17. www.edivar.ar (julio 2002)
18. www.infoagro.com (mayo 2002)
19. www.orbita.starmedia.com Relación Bosques Plantas Medicinales (julio 2002)
20. www.plantas.medicinales.org (mayo 2002)
21. www.puc.cl (julio 2002)
22. www.webs.uolsinectis.com.ar/fitomedicina/ (enero 2004)

ANEXOS

Anexo No. 1

MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

Material Vegetal

Hojas de *Cassia grandis* (carao)

Bulbos de *Allium sativum* (ajo)

Estándar (Control Positivo)

Ketoconazol MP Pureza 100.3%

Disolventes

Acetato de Etilo

Alcohol Etílico de 70° - 90°

Dimetilsulfóxido (DMSO)

Benceno

Cloroformo

Tolueno

Reactivos

Acetato de Plomo al 10% y TS

Ácido Clorhídrico al 10% y Concentrado

Ácido Sulfúrico al 10% y Concentrado

Amoníaco

Anhídrido Acético

Clorhidrato de Hidroxilamina

Clorhidrato de Quinina al 1%

Hidróxido de Potasio al 10-20%

Lamina de Magnesio

Reactivo de Baljet

Reactivo de Dragendorff

Reactivo de Kedde

Reactivo de Kéller –Killiani

Reactivo de Legal

Reactivo de Mayer

Reactivo de Wagner

Solución de Gelatina al 10%

Subacetato de Plomo TS

Tricloruro de Hierro al 1%

Vainillina al 1% en Etanol

Microorganismos Utilizados

Cepas de *Microsporum canis*

Cepas de *Trichophyton rubrum*

Cepas de *Epidermophyton floccosum*

Medio de Cultivo.

Agar Saborau

Material y Cristalería de Laboratorio

Ampollas de Separación de 250mL

Agitadores

Algodón y Gasas

Balones de fondo plano de 1000mL

Balones Volumétricos de 10mL

Beakers de 50-250-600 ML

Cajas de Petri

Cilindros de Acero Inoxidable

Embudos

Espátulas

Frasco Lavador

Pinzas

Pipetas Pasteur estériles

Tubos de ensayo

Equipo

Autoclave Webeco: Máxima Temperatura 138 °C, Máximo de Agua

120L, Presión 15Lbs, Voltaje 220 V

Balanza Analítica Mettler, Modelo H 15, capacidad 160g.

Estufa Precisión Scientific: Temperatura 65-210 °C, Voltaje 115V

Hot Plate

Mechero Bunsen

Microscopio binocular Micromaster, Fisher Scientific. 110V, 125mA

Refrigeradora Frío Seco Admiral, Cetron.

Rotavapor Labconco: Modelo: 50-60 CY, Revoluciones 30-250 min-1

Anexo No. 2

Preparación del Reactivo Revelador

Solución A: Vainillina al 1%

Pesar 1.0g de Vainillina, disolverla en etanol a 95°. Aforar a 100mL.

Solución B: Ácido Sulfúrico al 5%

Medir 5mL de Ácido Sulfúrico concentrado y luego diluirlo en etanol a 95° .

Aforar a 100mL.

Anexo No. 3

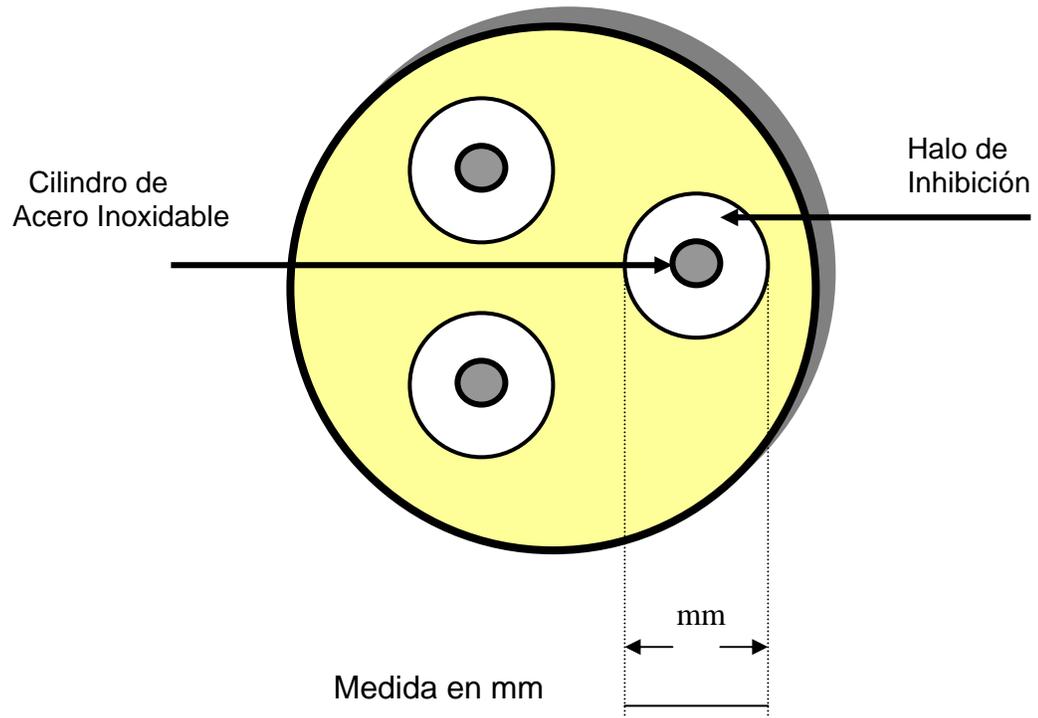


Figura No. 3 MEDICION DE LOS HALOS DE INHIBICION

Anexo No. 4

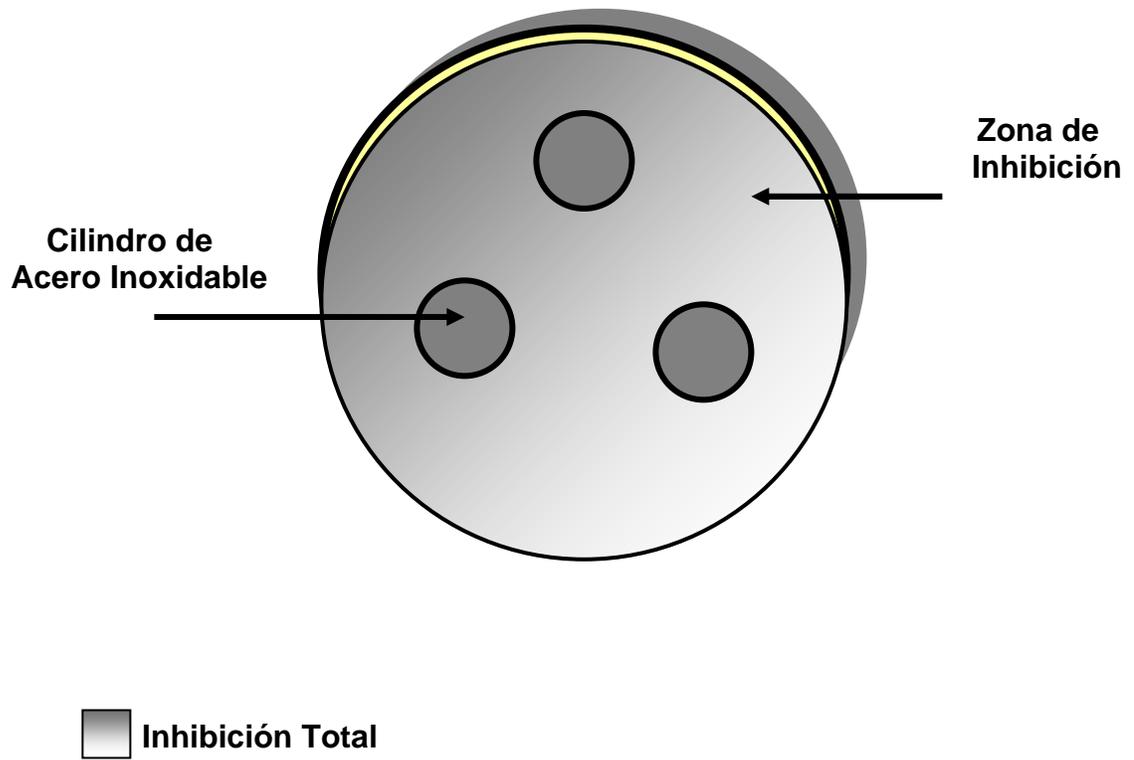


Figura No. 4 CONCENTRACION MINIMA FUNGICIDA

Anexo No. 5



Figura No. 5 HOJAS Y FRUTO DE CARAO

Anexo No. 6



Figura No. 6 BULBOS DE AJO