

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

**ACTIVIDAD DE DOCE PLANTAS NATIVAS
GUATEMALTECAS CONTRA *Sporothrix schenckii***

Informe de Tesis

Presentado por

Isabel Cristina Gaitán Fernández

Para optar el título de

Química Bióloga

Guatemala, febrero de 2005

ÍNDICE

I.	RESUMEN	4
II.	INTRODUCCIÓN	6
III.	ANTECEDENTES	8
A.	ESPOROTRICOSIS	8
	1. Definición de la enfermedad	8
	2. Agente etiológico	8
	3. Epidemiología	9
	4. Cuadro clínico	10
	5. Diagnóstico	12
	6. Tratamiento	13
B.	MEDICINA TRADICIONAL	17
	1. Fitoterapia	17
	2. Monografía de las plantas en estudio	20
	a. <i>Cornutia pyramidata</i> L.	20
	b. <i>Hypericum uliginosum</i> HBK	21
	c. <i>Lippia graveolens</i> HBK	22
	d. <i>Quercus crispifolia</i> Trelease	23
	e. <i>Salvia lavanduloides</i> HBK	24
	f. <i>Senna alata</i> L.	25
	g. <i>Smilax domingensis</i> L.	26
	h. <i>Solanum americanum</i> Miller.	28
	i. <i>Sterculia apetala</i> Jacq.	29
	j. <i>Tabebuia rosea</i> Bertol	30
	k. <i>Tithonia diversifolia</i> Hemsl	31
	l. <i>Valeriana prionophylla</i> Standl.	32
IV.	JUSTIFICACIÓN	33
V.	OBJETIVOS	35

VI.	HIPÓTESIS	36
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	37
VIII.	RESULTADOS	45
IX.	DISCUSIÓN	51
X.	CONCLUSIONES	55
XI.	RECOMENDACIONES	56
XII.	REFERENCIAS	57

I. RESUMEN

Las micosis subcutáneas son afecciones de curso subagudo o crónico que involucran el tejido subcutáneo, se extienden a lo largo de ganglios linfáticos e incluso pueden afectar órganos internos. La esporotricosis, micosis subcutánea causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii* ocupa el primer lugar de incidencia en Guatemala, seguida por los micetomas y la cromoblastomicosis.

La enfermedad se adquiere por traumatismo de la piel con material infectado (espinas, astillas, etc), produciéndose una lesión en el sitio de la inoculación.

El diagnóstico se lleva a cabo mediante un examen en fresco del material de la lesión y se confirma con un cultivo.

Los tratamientos de elección son el yoduro de potasio y la anfotericina B, el primero para esporotricosis cutánea y linfocutánea y el segundo en los casos de diseminación a órganos internos. Aunque se ha reportado la efectividad de ambos medicamentos, su uso prolongado produce efectos secundarios severos, algunos de los cuales son irreversibles en el paciente.

En el presente estudio se buscaron nuevas alternativas de tratamiento de la esporotricosis, con base en la actividad antifúngica que pudieran presentar los extractos etanólicos de *Cornutia pyramidata* (hoja), *Hypericum uliginosum* (hierba), *Lippia graveolens* (hoja), *Quercus crispifolia* (tallo y hoja), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Senna alata* (hoja), *Smilax domingensis* (hoja, tallo, raíz y flor), *Solanum americanum* (hoja), *Sterculia apetala* (hoja y corteza), *Tabebuia rosea* (hoja), *Tithonia diversifolia* (tallo) y *Valeriana prionophylla* (raíz), como una alternativa para la síntesis de nuevos fármacos o incluso utilizar el fitofármaco como tal.

Se determinó la actividad antifúngica de 17 extractos de 12 plantas nativas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii* tanto en su fase micelial como levaduriforme, utilizando el método para hongos filamentosos descrito por Brancato & Golding modificado por MacRae. El ensayo de actividad antifúngica

de los extractos etanólicos mostró resultados positivos para la fase micelial con *Lippia graveolens* (hoja) y *Valeriana prionophylla* (raíz), siendo la concentración inhibitoria mínima de 0.1 y 0.025 mg/mL respectivamente. En la fase levaduriforme se presentó actividad de 0.25 mg/mL con *Hypericum uliginosum* (hierba) y *Smilax domingensis* (tallo); y de 0.5 mg/mL con *Lippia graveolens* (hoja), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Senna alata* (hoja) y *Valeriana prionophylla* (raíz). La concentración inhibitoria mínima en los extractos positivos partió de un punto de corte de 1 mg/mL, como lo reportado en la metodología.

Con los resultados anteriores se comprueba la hipótesis planteada que por lo menos 3 de los extractos ensayados presentaron actividad positiva para cualquiera de las dos fases del hongo.

Se recomienda realizar otros estudios en los cuales se fraccionen los extractos de *Lippia graveolens* (hoja), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Senna alata* (hoja), *Valeriana prionophylla* (raíz), *Hypericum uliginosum* (hierba) y *Smilax domingensis* (tallo) para identificar los compuestos activos responsables de la actividad antifúngica contra *Sporothrix schenckii*.

II. INTRODUCCIÓN

La esporotricosis es una micosis que puede afectar tejido cutáneo, subcutáneo e irrigarse a vasos linfáticos adyacentes. Aunque es muy raro, puede también presentarse en una forma diseminada afectando distintos órganos internos. Es causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*, el cual se encuentra distribuido ampliamente en la naturaleza, con focos endémicos alrededor del mundo. En Guatemala, ocupa el primer lugar dentro de las micosis subcutáneas, debido al clima cálido y posiblemente a que uno de los factores predisponentes es de carácter ocupacional (granjeros, agricultores, jardineros, pescadores, etc.) (1-5).

Los medicamentos de elección utilizados en el tratamiento de la esporotricosis son el yoduro de potasio en la esporotricosis cutánea y la anfotericina B en los casos de esporotricosis pulmonar y diseminada. Aunque estos tratamientos son muy efectivos, tienen el inconveniente que producen efectos secundarios muy agresivos y pueden llegar a dañar otros órganos, principalmente riñones y médula ósea, por su prolongado tiempo de administración al paciente (6).

El uso de plantas medicinales para el tratamiento de ciertas enfermedades ha sido una práctica que se ha desarrollado desde tiempos inmemorables. En la actualidad se busca que las plantas no solo sean la materia prima para el tratamiento de enfermedades, sino que sirvan como modelo para la elaboración de medicamentos sintéticos que posean los componentes activos que le confieren a la planta su propiedad curativa. En la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, desde 1982 el grupo de Cáceres y colaboradores ha desarrollado investigaciones sobre plantas con actividad antifúngica contra dermatofitos, habiendo reportado que *Valeriana prionophylla* y *Smilax domingensis* tienen actividad contra *Trichophyton rubrum* y *Senna alata* contra *Microsporum gypseum*; sin embargo no se habían evaluado plantas contra *Sporothrix schenckii*.

Así pues, el objetivo de este estudio fue la búsqueda de la actividad antifúngica en diecisiete extractos etanólicos de doce plantas nativas guatemaltecas contra el aislamiento de tres especímenes clínicos de *Sporothrix schenckii*. La evaluación se realizó enfrentando al hongo con los extractos de las plantas donde se determinó su eficacia para inhibir el crecimiento del hongo, tanto en su fase levaduriforme como miceliar.

Se obtuvo actividad antifúngica contra dos extractos ante la fase miceliar del hongo y de seis contra la levaduriforme. Fueron así, los extractos de *Valeriana prionophylla* (raíz) y *Lippia graveoles* (hoja) activos contra la fase de miceliar y contra la levaduriforme, *Hypericum uliginosum* (hierba), *Smilax domingensis* (tallo), *Lippia graveolens* (hoja), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Senna alata* (hoja) y *Valeriana prionophylla* (raíz).

III. ANTECEDENTES

C. ESPOROTRICOSIS

1. Definición de la enfermedad

Micosis de curso subagudo o crónico caracterizada por lesiones nodulares en el tejido cutáneo o subcutáneo y nódulos linfáticos adyacentes que generalmente son ulcerosos y supurativos. Se puede diseminar en raras ocasiones a articulaciones, huesos, músculos, y órganos internos (pulmones, sistema genitourinario y sistema nervioso central) (1).

2. Agente etiológico

La esporotricosis es causada por el hongo dimorfo *Sporothrix schenckii*, el cual se adquiere por traumatismo de la piel con material infectado. La forma más común de adquirir la enfermedad es por heridas con astillas, espinas, cortaduras con púas o al manipular carrizos, tierra de alfarería, musgo o pasto. También se han reportado casos por manipular pescado, rasguños de gato, mordeduras de loros, perros o picaduras de insecto. El personal con mayor exposición ocupacional son los jardineros, trabajadores de la salud y mineros (1,2).

El hongo posee dos fases: una fase miceliar o saprofítica es la que se encuentra en la naturaleza, presenta micelio septado, hialino, fino; conidias de dos tipos, una globosa formando rosetas (conidióforos), el otro tipo son conidias solitarias que terminan al final de la hifa. Crece en agar Sabouraud incubado a 25°C en un período de 2 a 4 días; la colonia es de color crema, radiada y con escaso micelio aéreo y conforme envejece adquiere un pigmento café (6 a 10 días). La fase parasítica (encontrada en el material de las lesiones) son levaduras redondas a ovaladas. Se pueden cultivar *in vitro* en agar Infusión cerebro-corazón con o sin sangre en anaerobiosis (dióxido de carbono al 5%) durante una

a tres semanas a 37°C. La colonia de la levadura es pastosa, pequeña, color crema (2,3).

3. Epidemiología

Sporothrix schenckii se encuentra ampliamente distribuido alrededor del mundo, con focos endémicos en distintos países, con mayor prevalencia en países tropicales y subtropicales como México, Guatemala y Colombia. En México es la causa más frecuente de micosis subcutáneas, observándose principalmente en manipuladores de hierbas. En Uruguay, la mayoría de los casos está relacionada con la casa del armadillo, en cuyas madrigueras se ha aislado el hongo. En Brasil es una enfermedad frecuente en manipuladores de paja. En Guatemala la predisposición para adquirir la enfermedad se asocia a la agricultura. En el resto de lugares se debe a exposición ocupacional por jardinería y agricultura (1,4).

La esporotricosis puede presentarse en todas las edades y afecta principalmente a los hombres en una proporción de 3:1 por el riesgo de exposición, pero puede variar dependiendo del país (1).

En 1978 el primer caso de esporotricosis reportado para Guatemala fue en la Laguna de Ayarza en el Departamento de Santa Rosa, área endémica de *Sporothrix schenckii*. Además se ha establecido otros focos endémicos en los Departamentos de San Marcos y Chimaltenango (2,5).

Se han realizado varios estudios epidemiológicos donde se ha determinado que la esporotricosis es la micosis subcutánea más frecuente en Guatemala, con un predominio del sexo masculino; la agricultura constituye el principal riesgo de exposición. El dato más reciente es de 1994 donde se reportaron 285 casos confirmados por el Laboratorio de Micología de la Policlínica del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) y el Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de

Guatemala. Aunque no existen datos más recientes se considera que el número de casos va en aumento, manteniéndose como primer causa de enfermedad subcutánea a la esporotricosis (5-8).

4. Cuadro clínico

Se caracteriza por la aparición de nódulos ulcerativos o verrucosos en el sitio de inoculación, aunque *Sporothrix schenckii* puede causar múltiples síndromes.

a. Esporotricosis linfocutánea

Se inicia con la aparición de una lesión papulonodular eritematosa en el sitio de inoculación, que crece durante días o semanas. Las lesiones son lisas o verrucosas con tendencia a la ulceración y supuración. La localización más frecuente son las extremidades, aunque aparecen en cualquier lugar. La lesión inicial puede permanecer como única, pero generalmente la tendencia es el desarrollo de otras lesiones que siguen el trayecto de los vasos linfáticos. La forma cutánea (fija o en placa) no se extiende localmente, se desarrollan lesiones eritematosas, ulcerosas, infiltradas o verrucosas sin afección del sistema linfático (9).

b. Esporotricosis mucocutánea

Se presenta como lesiones eritematosas supurativas y ulcerativas que se convierten posteriormente en granulomatosas, vegetativas o papilomatosas. Se localizan en la boca, faringe, cuerdas vocales y nariz. Estas lesiones son dolorosas y con tendencia al sangrado (1).

c. Esporotricosis extracutánea

La forma más frecuente es la osteoarticular, se caracteriza por una artritis destructiva con lesiones osteolíticas, tenosinovitis y periosteítis. Las articulaciones mayores de las extremidades (mano, codo, tobillo y rodilla) son las más frecuentemente afectadas. También se pueden presentar lesiones cutáneas y subcutáneas) (9).

La esporotricosis pulmonar es muy rara y se adquiere por inhalación de las esporas del hongo. Se desarrolla en pacientes que presentan alguna enfermedad inmunosupresora como el Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), tuberculosis pulmonar, diabetes, alcoholismo o en pacientes con tratamiento prolongado con corticoides. La inhalación de las esporas de *Sporothrix schenckii* puede dar lugar a una enfermedad asintomática, que sin tratamiento puede progresar hacia necrosis caseosa, alteración de la función pulmonar y en ocasiones a diseminarse a otros órganos (9).

La afección meníngea es poco frecuente, pero cuando ocurre se manifiesta como meningitis crónica con cefalea, confusión, y pérdida de peso. Debe hacerse diagnóstico diferencial con tuberculosis, criptococosis e histoplasmosis (10).

d. Esporotricosis multifocal extracutánea

Es una enfermedad poco frecuente y generalmente se observa en pacientes con enfermedades de base como diabetes, tratamiento prolongado con corticoides, neoplasias, sarcoidosis, enfermedades hematológicas, infecciones por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y alcoholismo. Puede diseminarse vía linfática o hematógena. Generalmente las lesiones se localizan en la piel, huesos y músculos pero puede afectar otros órganos tales como tracto genitourinario, sistema

nervioso central, hígado, bazo, páncreas, miocardio y tiroides (2,9).

5. Diagnóstico

En el diagnóstico de la esporotricosis una buena toma de muestra es importante para obtener por aspiración el material de las lesiones purulentas (nódulos, úlceras o pústulas) y en los casos que fuese necesario, tejido por medio de una biopsia.

Se hace una evaluación del material obtenido con un examen en fresco y una coloración de Giemsa. El diagnóstico se confirma por medio del cultivo. También se pueden realizar estudios histológicos e inmunológicos.

a. Examen en fresco del material

Observación microscópica de los cuerpos asteroides, que son estructuras formadas por levaduras que presentan una especie de rayos, dando un aspecto de estrella (5).

b. Coloración de Giemsa

Levaduras de *Sporothrix schenckii*, de forma alargada intra y extracelulares, de 2-10 μm de diámetro. Debe confirmarse con el cultivo, ya que la observación de las levaduras es difícil debido a la cantidad tan escasa que se encuentra en la muestra. (5,9).

c. Cultivo

El material purulento cultivarlo en agar Saboraud con cicloheximida y cloranfenicol, incubado a 27°C durante una semana como mínimo; si después de tres semanas no existe crecimiento característico de la colonia de *Sporothrix schenckii* se reporta como negativo (3).

d. Estudios histopatológicos

Presencia de cuerpos asteroides, granulomas con infiltración de linfocitos, células gigantes, fibrosis y otros cambios celulares (2).

e. Inmunología

Aglutininas, fijación del complemento, precipitinas, se pueden demostrar, pero no son pruebas de rutina en los laboratorios. La técnica serológica para el diagnóstico más rápido de esporotricosis son los anticuerpos fluorescentes (11).

6. Tratamiento

Todas las formas de esporotricosis requieren de tratamiento. El tratamiento clásico para la esporotricosis cutánea sigue siendo la solución saturada de yoduro de potasio. El uso de imidazoles es recomendado como tratamiento antimicótico alternativo para la mayoría de casos. En la esporotricosis pulmonar y diseminada se utiliza la anfotericina B como tratamiento de elección, ya que es un antimicótico más agresivo que produce una mejor respuesta, este medicamento se puede combinar con otros antimicóticos y antibacterianos, estos últimos utilizados como profilácticos para evitar posibles infecciones bacterianas (9).

a. Yoduro de potasio (KI)

Es el tratamiento de elección específico de la esporotricosis cutánea y linfocutánea. Su acción contra la esporotricosis linfocutánea fue reportado por primera vez en 1903 por Beurmann y Raymond. (12).

i. Mecanismo de acción

Su mecanismo de acción es desconocido, no tiene acción directa contra *Sporothrix schenckii*, ya que se ha demostrado que el hongo puede crecer en medios de cultivo

con altas concentraciones de yoduro de potasio. Se asume que más bien que su acción es indirecta, facilitando los procesos de inmunidad celular o general (5,13).

ii. Dosis

Administración oral de una solución saturada de yoduro de potasio (23 g en 100 mL de agua) tres veces al día; se aumenta la dosis hasta 3 ó 4 mL tres veces al día durante tres a cuatro semanas; siendo la dosis óptima de 4 a 6 g por día en el adulto y de 1 a 3 g en los niños (14).

iii. Efectos secundarios

Exantema, salivación, lagrimeo, náusea, vómitos, gastritis, rinitis, faringolaringitis, bronquitis (3,12).

b. Anfotericina B

Antimicótico de amplio espectro aislado del hongo *Streptomyces nodosus*. Se utiliza como el tratamiento inicial para micosis diseminadas y extracutáneas, siendo posteriormente reemplazado por imidazoles.

Administrado en casos de esporotricosis pulmonar o diseminada, o en aquellos en los cuales hay resistencia a otros tratamientos (14,15).

i. Mecanismo de acción

El fármaco se une firmemente al ergosterol en la membrana celular del hongo. La membrana de las células fúngicas se alteran y se pierden las macromoléculas celulares y los iones, lo que origina un daño irreversible. La resistencia a la anfotericina B se puede deber a una disminución en la cantidad de ergosterol de la membrana o a una modificación en su estructura (16).

ii. Dosis

Vía de administración intravenosa. Se debe de administrar con suero con dextrosa al 5% durante 4 a 6 horas, iniciando con una dosis de 0.5 mg/kg de peso hasta alcanzar 1mg/kg, durante 2 a 3 días por un período de hasta 4 meses (15).

iii. Efectos secundarios

Fiebre, calofríos, anorexia, cefalea, náusea, vómitos, insuficiencia renal; su administración intertecal causa aracnoiditis, paresias, pérdida de la visión y alteraciones de los esfínteres. A menudo se presenta disminución de la presión arterial (3,15,16).

c. 5-fluorocistocinina

Sintetizado por primera vez en 1957 por Duschinsky y colaboradores, como un agente citostático, pero en 1958 se descubrió su actividad citotóxica contra las células fúngicas por el equipo de investigación de Heidelberger. Es un antimicótico oral de amplio espectro, también se puede encontrar disponible en presentación para su administración intravenosa y tópica (12).

i. Mecanismo de acción

La 5-fluorocitostocinina es un análogo de la pirimidina hidrosoluble. Penetra a 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. Intracelularmente es convertida en 5-fluorouracilo y en trifosfato de fluoruridina. La sustitución del uracilo por 5-fluoruracilo y el fosfato de fluoruridina, inhiben la síntesis de ácido desoxiribonucleico (ADN) y del ácido ribonucleico (ARN)

respectivamente, lo que altera la síntesis protéica, llevando a la célula fúngica a la muerte (5,15,16).

ii. Dosis

Se puede administrar en forma oral, intravenosa o tópica. Por vía intravenosa se recomienda una dosis de 100 a 150 mg / kg de peso. Tiene actividad antifúngica en una dosis de 100 mg / L (12,16).

iii. Efectos secundarios

Náuseas, vómitos, enterocolitis y depresión de la médula ósea (5,12).

d. Otros antimicóticos

Otros antimicóticos de utilidad en el tratamiento de la esporotricosis son los triazoles, principalmente el itraconazol, activo en todas las formas de esporotricosis pero por su alto costo sólo se emplea en las formas diseminadas. La dosis promedio empleada es de 200 mg diarios que pueden administrarse por varios meses y puede asociarse al yoduro de potasio con buenos resultados. No se recomienda el uso del ketoconazol por su pobre respuesta y su potencial hepatotoxicidad. El fluconazol es también efectivo en las formas graves de esporotricosis, utilizándose dosis de 200 a 400 mg diarios, hasta por seis meses (17).

En los enfermos con SIDA es recomendable la combinación de por lo menos dos antimicóticos; se ha considerado la terbinafina más fluconazol como una buena alternativa (14,17).

Se han comunicado algunos buenos resultados con griseofulvina; sin embargo son más las publicaciones que refieren fracasos, por lo que en la actualidad no se considera su uso (17).

La combinación de trimetoprim-sulfametoxazol ha sido recomendada para contrarrestar cualquier tipo de infección bacteriana secundaria (17).

D. MEDICINA TRADICIONAL

1. Fitoterapia

a. Definición

La Fitoterapia (*phytos* = vegetal) es el tratamiento de enfermedades con plantas medicinales. La parte activa de la planta medicinal está formada por numerosos componentes y su acción farmacológica la mayoría de las veces es superior a la que se obtiene con los principios activos aislados, es decir sus componentes actúan sinérgicamente (18).

b. Historia

La historia oficial de la Fitoterapia se originó hace 3000 años A.C. Las pomadas, ungüentos, pociones, diluciones, etc. se relacionaban con creencias antiguas espirituales, mágicas y supersticiosas a las cuales contribuyeron magos, alquimistas, paranormales y ocultistas. La “virtud curativa” emanaba del supuesto poder espiritual de la planta. En la actualidad se conoce que las plantas obran por sus principios activos que contienen y no por poderes de la magia (18).

En siglo XXX A.C. ya se conocía el alcanfor, ruibarbo y el acónico (medicina china), se tenían archivos de curas con plantas medicinales. Los egipcios cultivaban hierbas para los cosméticos y el embalsamamiento de las momias; hebreos y asirios para los

rituales religiosos. En la India se han hecho recetas de vegetales (caraca vagabhta, susruta) por siglos (18).

En el bajo Nilo, siglo III A.C., se edificó en el templo de Torus una escuela de medicina donde se cultivaban plantas medicinales. Los conocimientos egipcios se extendieron por toda Mesopotamia; en Babilonia se utilizaban alrededor de 250 plantas de uso medicinal (19).

En Grecia, Hipócrates (460-377 A.C.) realizó el “*corpus hippocraticum*” donde preconiza a cada enfermedad en ese tiempo conocida y el medicamento vegetal que la curaría. Los griegos procesaron conocimientos que vinieron de Creta y micénicos como el azafrán, el ajonjolí y la amapola (*Papaver somniferum*) (18-19).

En la Roma clásica, hay diversos escritos sobre fitoterapia, de los que destacan los de Galeno y Plinio. Galeno, padre de la farmacología, publicó 200 obras de medicina, además marca las pautas de extracción de los principios activos de las plantas, utilizando para ello agua, alcohol o vinagre. Dioscorides en su materia médica, en siglo I D.C habla de 500 drogas vegetales. Para los romanos la mirra, lino, rábano, canela, pimienta, cardamomo, jengibre, goma arábiga, amapola, eran una importación de relieve. El rol de los monasterios en la Edad Media fue la elaboración de manuscritos donde se encontraba la única comunicación con el saber, ya que el oscurantismo detuvo la evolución de todo el conocimiento (18-20).

Las expediciones al nuevo mundo trajeron consigo muchas plantas desconocidas, de tal suerte que aparecen los primeros herbarios en América. En el manuscrito Badiana, escrito por el médico azteca Martín de la Cruz, se describen las plantas que revolucionaron la fitoterapia europea (zarzaparrilla, tabaco, coca o

la quina). Carl von Linné, en el siglo XVIII, describe la clasificación de estas plantas (21).

En 1872, al descubrirse el papiro de Ebers (egipcio) se conoce el grado de evolución que hizo la herbalística (preparación de cosméticos y embalsamamiento) (21).

En el siglo XIX, los avances que experimenta la fitoterapia son gracias a los estudios de Darwin y Mendel, que permiten estudiar las plantas desde una perspectiva más profunda, se describen y establecen las causas y efectos. Toda la historia de la medicina está ligada con las plantas medicinales, hasta el siglo XX. Es así como los remedios que hoy se conocen son un poco más que centenarios. Hasta principios del siglo XIX, la materia para los medicamentos provenía de vegetales y animales, no se conocía la síntesis química y fue con el alemán Wohler Friedrich (1828) quien al sintetizar la urea (a partir del cianato de amonio) dio un giro fundamental que hoy numerosos principios contenidos en las plantas, se sintetizan y forman parte de la farmacopea terapéutica (21).

Desde sus inicios la Fitoterapia no ha dejado de progresar y gracias a los avances de la ciencia hoy en día ocupa el lugar que merece dentro del marco de la salud. Su desarrollo mundial se debe al alto nivel de conocimiento que, mediante estudios científicos, han demostrado las propiedades terapéuticas de las plantas medicinales. Este hecho unido a un importante desarrollo galénico, y fórmulas cada vez más eficaces y perfectamente adaptadas a uno u otro tipo de afección hacen de la Fitoterapia un tratamiento más dentro del arsenal de medicamentos clásicos (18,20).

c. Fitoterapia en Guatemala

El empleo de plantas medicinales al igual que en otros lugares del mundo, se remonta a la época antigua. Los mayas descubrieron el uso de muchas plantas curativas.

A partir de 1927 se inició la recopilación y documentación sobre plantas medicinales. Actualmente existen diversas instituciones que se encargan de realizar estudios *in vitro* donde se determina las propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitarias, efectos antitumorales y de toxicidad celular de los extractos de las plantas. Entre estas instituciones se encuentran la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Universidad del Valle de Guatemala, el Centro de Estudios Mesoamericanos sobre Tecnología Apropriada (CEMAT) y el Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos (FARMAYA) (22-24).

2. Monografía de las plantas en estudio

a. *Cornutia pyramidata* L.

i. Familia

Verbenaceae

ii. Nombres comunes

Flor lila (Guatemala), Hoja de zope (Izabal), Lat-che (Maya-Petén), Tzultesnuk y Matasano (Honduras) (25).

iii. Descripción botánica

Arbusto largo o árboles débiles de 12 m de largo, el tronco de hasta 15 cm de diámetro densamente ramificado, pubescente, puberulento o tomentoso. Hojas con pecíolos de 0.5-3 cm de largo, elípticas, elípticas-ovaladas de 4-20 cm de largo, 4-14 cm de ancho, agudas o acuminadas, usualmente

atenuadas en la base; ambas superficies densamente pubescentes o puberulentas, o en la parte inferior tomentosa. Inflorescencia terminal o subterminal, paniculada de 10-40 cm de largo, 5-10 cm de ancho, los pedicelos y pedúnculos densamente pubescentes o pubescente en la cima o pobremente pubescente. Cáliz cupuliforme en el antésis de 1-3 mm de largo, densamente pubescente, truncado, algunas veces dentado. El fruto pateliforme a cupuliforme, corola azul o púrpura poco pubescente, o puberulento (25).

iv. Distribución geográfica

En los departamentos de Izabal, Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, El Progreso, Escuintla, Guatemala, Petén, Quetzaltenango, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Sololá, Suchitepéquez, Zacapa en Guatemala; México; Honduras; Nicaragua (25).

v. Usos medicinales

Se utiliza la raíz para los nervios. Las hojas para dolores de cuerpo, inflamación de brazo, diabetes y flujo vaginal. En estudios recientes se ha demostrado su actividad antiprotozoaria para el tratamiento de paludismo y leishmania (26-29).

b. *Hypericum uliginosum* HBK

i. Familia

Clusiaceae

ii. Nombres comunes

Mil flores, Retij (Cobán), Ruda de monte (30).

iii. Descripción botánica

Planta que sale de una raíz perpendicular o de algunas gruesas, erecto, simple o usualmente ramificada de 50 cm de alto o menor. Hojas lineales o cercano a esto, de 1-2 cm de

largo, agudo u obtuso y apiculado, angosto cerca de la base, una invención, punticulado, cara inferior pálido, esparcido o no, usualmente plano pero algunas veces revoluta. Flores numerosas, subcorimbosa, en ramas secundarias, sésiles o casi sésiles; sépalos linear-lanceolados, largos, atenuados, estriado; pétalos amarillo, de menor tamaño que los sépalos; 20 estambres, de tres tipos, cápsula oblonga de 5-6 mm de largo, agudo, una celda. Semillas numerosas, ovales; café de 0.5 mm de largo (30).

iv. Distribución geográfica

En Guatemala en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, El Progreso, Chiquimula, Zacapa, Jalapa, Jutiapa, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Sololá, Quiché, Huehuetenango, Totonicapán, Quetzaltenango, San Marcos; México, Honduras; El Salvador; Nicaragua; Costa Rica y Panamá (30).

v. Usos medicinales

Se utiliza la decocción de la raíz en crisis de nervios. Hojas para dolores de cuerpo (26,27).

c. *Lippia graveolens* HBK

i. Familia

Verbenaceae

ii. Nombres comunes

Orégano de monte, Mejorana (31).

iii. Descripción botánica

Arbusto delgado de hasta 2 m de alto, ramas con pubescencia corto-pilosa, Hojas en pecíolos de 5-10 mm de largo, las láminas oblongas, elípticas a ovalado-oblongas, de 2-4 cm de largo, usualmente obtusas o redondeadas en el ápice, algunas veces agudas, redondeadas o subcordadas en la base,

densamente pilosas en el haz, suaves al tacto, glandular y densamente tomentosa o pilosa en el envés, el borde crenado; 2 a 6 pedúnculos en la axila de la hoja, 4-12 mm de longitud. Flores en espigas subglobosas a oblongas de 4-12 mm de largo, 4 brácteas gruesas, ovado a lanceoladas, agudas, glandulares y densamente pilosas; cáliz de 1-2 mm de largo, glandular y velloso; corola blanca, el tubo estrigoso de 3-6 mm de largo. (31).

iv. Distribución geográfica

En los departamentos de El Progreso, Petén y Zacapa en Guatemala; México; Texas, Estados Unidos y Nicaragua (32).

v. Usos medicinales

Anemia, afecciones gastrointestinales como amebiasis, cólico, diarrea, disentería, dispepsia, estreñimiento e indigestión, afecciones respiratorias como asma, bronquitis, catarro, influenza, laringitis, pleuresía, resfrío, tos, tuberculosis. Otros usos en la ictericia, amenorrea, dismenorrea y reumatismo. Las hojas en decocción, para la cicatrización de heridas, llagas e inflamaciones y aliviar prurito. Planta fresca macerada en aceite para dolores reumáticos (22).

d. *Quercus crispifolia* Trelease

i. Familia

Fagaceae

ii. Nombres comunes

Encino, Roble, Roble amarillo (33).

iii. Descripción botánica

Árbol grande o mediano, tomentoso al principio y luego glabrado color gris o café-rojizo con lenticelos prominentes o incompiscuos; vástagos de 5-6 mm de largo, oblongo, fusiforme, agudo, café claro, glabroso, ciliado. Hojas delgadas, pero duras

desde 10 hasta 15-20 cm y raramente 25 cm de largo y de 3-5 cm hasta 7.5 cm de ancho. Oblongo-lanceoladas a lanceoladas, lineares acuminada, atenuada o flagelada, base curva o redonda o raramente subcorada, la parte superior lustrosa, glabrosa o pubescente en la base, la superficie inferior es similar pero más pubescencia en la base, invención lateral es de 15 a 20 de cada lado. Pecíolos de 5 a 10 mm de largo, raramente, rojo oscuro en la base. Fruto bienal ovalado de 25-30 mm de largo al inicio pubescente y cuando madura se convierte en glabrado color café (33).

iv. Distribución geográfica

En los departamentos de Alta Verapaz, Chiquimula, Jalapa y San Marcos en Guatemala; Chiapas, México y El Salvador (33).

v. Usos medicinales

Hojas y corteza para el tratamiento de afecciones gastrointestinales como diarrea crónica, disentería, gastritis, y vómitos. Resfríos. Desinfección de heridas, fístulas, úlceras, detener sangrado de heridas, hemorragias de la nariz, hemorragias menstruales excesivas y anemia. Mal de orín, flujos vaginales, elimina la leucorrea al utilizarse como lavado vaginal. Contra el sudor de pies (22,34).

e. *Salvia lavanduloides* HBK

i. Familia

Lamiaceae

ii. Nombres comunes

Salvia de monte (25).

iii. Descripción botánica

Hierba delgada, perenne, tallo solitario o en conjunto, recto de 1 m o menos de largo, ramas simples o espaciadas con

hojas. Hojas con pecíolo corto, angosto, elíptico-oblongo o lanceolado de 3-9 cm de largo, agudo u obtuso, agudo o atenuado en la base, serrulado, venosa, verdosa en la cara superior, densamente pubescente o glabroso, en la cara inferior es pubescente de color grisáceo a blanquecino, verticilos de 12 flores formando espigas de 3-12 cm de largo y de 1.5 cm de diámetro. Flores sésiles o casi sésiles, el cáliz tiene de 4-5.5 mm de largo y raramente 7 mm, blanquecino y densamente pubescente a cercanamente glabrosa; la corola de color azul intenso a azul pálido o violeta; el tubo de 3.5-4.5 mm de largo, el labio superior de 2-2.5 mm de largo y densamente pubescente; el labio inferior de 3-5 mm de largo (25).

iv. Distribución geográfica

En los departamentos de Baja Verapaz, Zacapa, Jalapa, Santa Rosa, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Sololá, Quiché, Huehuetenango, Totonicapán, Quetzaltenango, San Marcos en Guatemala; Centro y Sur de México; Honduras (25).

v. Usos medicinales

Dolor de vientre después del parto, flujo de sangre, dolores menstruales, aire, dolor de estómago y dolor de muelas. Disminuir la fiebre. Padecimientos digestivos como diarrea, dolor de estómago y vómitos. Padecimiento de la vesícula. Contrarrestar la tos y tos ferina. Hemorragias vaginales y lavar heridas (35,36).

f. *Senna alata* L.

i. Familia

Caesalpiniaceae

ii. Nombres comunes

Barajo, Moco, Taratana (Tabasco), Flor del secreto (Yucatan), Gajagua, Hierba de playa, Laureno, Lucutema (37).

iii. Descripción botánica

Arbusto de 1-2 m de largo o mayor, ramas pubescentes o glabradas, lanceoladas, atenuadas de 1-2 cm de largo. Hojas largas formadas por hojas más pequeñas de 6 a 12, dispuestas en pares, oblongas o oblongas-ovaladas de 5-15 cm de largo, 3-8 cm de ancho, redondeadas en el ápice y la base, puberulenta esparcida o glabrada. Flores amarillas en racimos, usualmente del largo de las hojas o mayores, planta muy florida. Pedicelos cortos ovalados u oblicuos, el tubo de 7-11 cm de largo, 1-2.2 mm de ancho, el labio inferior del limbo generalmente es de la mitad del tamaño del tubo o menor. Ovario pubescente. Fruto glabroso, puberulento o pubescente de 3-6 mm de largo (37).

iv. Distribución geográfica

En el departamento de Izabal en Guatemala; México; Honduras; Nicaragua; Costa Rica; Panamá y Sur América (37).

v. Usos medicinales

Enfermedades cutáneas, reumatismo, dolor de estómago, enfermedades venéreas y mordeduras de serpientes. Las hojas son antihelmíntica, fungicida, insecticida, posiblemente pesticida (37,38).

g. *Smilax domingensis* L.

i. Familia

Smilacaceae

ii. Nombres comunes

Zarzaparrilla (Guatemala) , Raíz china, Zarza, Corona de Cristo (Honduras), Bejuco de canasta (Costa Rica) (33).

iii. Descripción botánica

Glabras completamente. Tallos teretes, escasamente armados en la parte inferior con agujones robustos recurvados, inermes en la parte superior. Hojas de 6-15 cm de largo y 1.5-10

cm de ancho, 1.4-6 veces más largas que anchas, ovaladas, lanceoladas-ovadas, o lanceoladas cartáceas, inermes, 5 nervios desde la base, las nervaduras primarias prominentes en el envés, no impresas en el haz, el par exterior submarginal, las nervaduras secundarias conspicuas, algo prominentes, reticuladas, el ápice brevemente acuminado breviscupido, la base aguda, margen entero; peciolo de 0.5-2 cm. Umbelas estaminadas solitarias; pedúnculo 1-5 mm, terete o algo aplanado. Umbelas pistiladas solitarias; pedúnculo 1-5 mm, más corto que el peciolo subyacente, subterete. Pétalos de las flores estaminados de 4-6 mm; filamentos de 2-4 mm, anteras de 1-2 mm. Pétalos de las flores pistiladas. Bayas de 7-10 mm, rojas purpúreas o negras (39).

iv. Distribución geográfica

México; Honduras; El Salvador; Costa Rica; Panamá y en Guatemala en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, Escuintla, Sacatepéquez (33).

v. Usos medicinales

El rizoma se usa para tratar anemia, afecciones gastrointestinales (diarrea, dolor de estómago, inapetencia), hinchazón, malaria, dolor de riñones, enfermedades de la sangre y venéreas, hepatitis, reumatismo y tumores. Se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, antifúngicas, antiprúritas, antireumáticas, antisépticas, cicatrizantes, desinflamantes, estimulantes, diuréticas, diaforéticas, depurativas, sudoríferas y tónicas (22).

h. *Solanum americanum* Miller.

i. Familia

Solanaceae

ii. Nombres comunes

Macuy (Alta Verapaz), Hierba mora (Chimaltenango y Jutiapa), Quilete (Santa Rosa) (40).

iii. Descripción botánica

Hierba de 1 m de alto con tallo pubescente. Hojas en solas o en pares de 3-14 cm de largo, lanceoladas y ápice agudo. Flores en cálices de 1-2 mm, lóbulos ovalados y agudos; corola blanca, limbo partido de 5-8 mm de ancho, pistilo de 2.5-3.5 cm de largo, ovario globoso. Fruto globoso de 4-8mm, negro al madurar. Semilla pequeña (40).

iv. Distribución geográfica

En Guatemala, se encuentra en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (40).

v. Usos medicinales

Afecciones gastrointestinales como diarrea, cólico, estreñimiento, gastritis, úlcera gástrica, afecciones respiratorias como asma, amigdalitis, tos ferina. En anemia, cirrosis, dolor de muelas, escorbuto, meningitis, hinchazón, nerviosismo, paludismo, presión alta, retención urinaria, reumatismo. Afecciones dermatomucosas como acné, abscesos, dermatitis, eczema, erisipela, exantema, heridas, leucorrea, llagas mezquinos, pústulas, tiña, úlceras y vaginitis (22).

i. *Sterculia apetala* Jacq.

i. Familia

Esterculiaceae

ii. Nombres comunes

Castaño (Centro América), Anacaguitas (Cuba y Puerto Rico), Castañas y Bellota (México), Camajón duro y camajurú (Colombia), Coco de Monte (Ecuador), Exixa (Brasil) (41).

iii. Descripción botánica

Árbol de 30 m de alto, con una depresión, separados, densamente frondoso y de tronco grueso. Hojas con pecíolos largos de 15-50 cm de ancho o mayor, membranosas, con 5 lóbulos, en la base acorazonada, glabrada, en la cara inferior tomentosas cuando son jóvenes, pero luego se convierten en glabradas; ápice redondeado a subcordado. Paniculas con muchas flores, abiertas o densas, iguales o menores que los pecíolos; cáliz abierto-acampanado de 2.5-3 cm de ancho, amarillo con puntos color violeta; carpelos de la fruta de 10 cm de largo, tomentoso en la parte de afuera, hispido, sésil. Semillas ovaladas de 2 cm de largo, lustrosos (41).

iv. Distribución geográfica

En Guatemala en los departamentos de Petén, Alta Verapaz, Zacapa, El Progreso, Santa Rosa, Escuintla, Suchitepéquez, Retalhuleu y San Marcos; México, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, en el norte de Sur América (41).

v. Usos medicinales

Se utilizan las flores como antiasmático, anticatarrales. Hojas como antirreumáticas. Raíces como remedio antimalárico y en lavados vaginales (42,43).

j. *Tabebuia rosea* Bertol

i. Familia

Bignoniaceae

ii. Nombres comunes

Matilisguate, Tecoma rosea, Couralia rosea, Maqueliz (Petén), Macueliz, Fresno y Macuelizo (Huehuetenango) (44).

iii. Descripción botánica

Árbol de 30 m de alto, tronco grueso, recto que alcanza hasta 1 m de diámetro; copa esparcida o redonda, corteza color café claro, gruesa; la corteza interna es café; ramas glandulares. Usualmente 5 hojas, con pecíolo largo, subcoracea de 10-25 cm de largo, elípticas-oblongas a elípticas-ovaladas o algunas veces aguda en la base, completa, densamente barbado; los axiales de las nervaduras inferiores con glándulas. Flores largas y abiertas, cáliz bilabiado de 1.5-2 cm de largo, cerrado en el botón, densamente glandular, corola de 6-8 cm de largo, varía de rosa a violeta y raramente blanco, glabroso, ovario glandular, cápsulas de 30 cm de largo y 12 mm de grosor, atenuando en cada extremo, densamente barbado (44).

iv. Distribución geográfica

En Guatemala en los departamentos de Petén, Alta Verapaz, Baja Verapaz, El Progreso, Izabal, Zacapa, Suchitepéquez, Retalhuleu, San Marcos, Huehuetenango; México; El Salvador; Honduras; Panamá; Venezuela (44).

v. Usos medicinales

La corteza se utiliza como remedio contra la anemia, flujos vaginales y antídoto contra mordeduras de serpientes. Las hojas, flores y raíces se le atribuyen propiedades febrífugas, analgésicas y sudoríficas (43).

k. *Tithonia diversifolia* Hemsl

i. Familia

Asteraceae

ii. Nombre común

Mirasol (Alta Verapaz, Chiquimula y Santa Rosa), K'onon, Q'il, Sun (Quiché, Alta Verapaz), Quil (Suchitepequez), Quil amargo (Guatemala), Saján grande (Jutiapa) (45).

iii. Descripción botánica

Planta herbácea o arbusto de 1.5-4 m de alto, ramas fuertes, al principio hispido-pilosa o subtomentosa, con la edad siempre son glabras o cercanas a esto. Hojas alternadas de 7-20 cm de largo y 4-20 cm de ancho; de 3 a 5 lóbulos prominentes. Los bordes son crenados, aserrados, tuberculados-hispidulosos. Usualmente densamente pilosa a glabrado de 1.5-4 cm. De 12 a 14 flores amarillas claro o naranja, de 3-6 cm de largo, corolas discoides de 8 mm de largo, amarilla, lanceolada en el ápice, 1.5-2.5 mm de largo (45).

iv. Distribución geográfica

Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Jutiapa, Quetzaltenango, San Marcos, Sacatepéquez, Santa Rosa, Sololá y Suchitepéquez en Guatemala; México; Honduras; El Salvador; Costa Rica y Panamá (45).

v. Usos medicinales

Malaria, eczemas y mordidas de animales domésticos (45).

I. *Valeriana prionophylla* Standl.

i. Familia

Valerianaceae

ii. Nombres comunes

Raíz de gato, Valeriana y Pericón de monte (Huehuetenango) (46).

iii. Descripción botánica

Hierba perenne, vivaz, rizoma pequeño productor de estolones, subterráneo de los que salen múltiples raíces de 1-2 cm de grueso, tallo hueco, acanalado, 70-170 cm de alto. Hojas imparipinadas, de 7 a 21 segmentos dentados, lanceoladas, márgenes dentados. Tallo floral que surge al segundo o tercer año, redondo, estriado, de hasta 1.5 m de alto. Flores en umbelas, pequeñas, tubulares, irregulares, blancas o rosadas. Frutos en aquenio coronado (22,46).

iv. Distribución geográfica

En Guatemala en los departamentos de Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzaltenango, Sacatepéquez, San Marcos, Sololá, Totonicapán; en México en el estado de Chiapas y en Costa Rica (46).

v. Usos medicinales

La decocción de la hoja se utiliza en curación de heridas, granos y afecciones de la piel. También se utiliza como sedante (22,47).

IV. JUSTIFICACIÓN

La esporotricosis es una enfermedad subcutánea muy común causada por el hongo *Sporothrix schenckii*; se encuentra ampliamente distribuida alrededor del mundo con focos endémicos en distintos países dentro de los cuales se encuentra Guatemala.

La enfermedad puede desarrollarse desde una forma aguda hasta llegar a una fase crónica, que puede afectar articulaciones, huesos, sistema nervioso central, tracto respiratorio y sistema genitourinario.

Existen varios medicamentos para el tratamiento de esta micosis, de los cuales el yoduro de potasio y la anfotericina B son los tratamientos de elección, dependiendo del tipo de esporotricosis que el paciente presente. Sin embargo existen muchas reacciones secundarias a estos tratamientos tales como vómitos, náusea y fiebre, entre otros; así como efectos graves por su uso prolongado como tromboflebitis y daño renal, cuya ocurrencia es inevitable, ya que para que el tratamiento antimicótico sea efectivo se requiere de varias semanas de administración.

La búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento para las micosis es una consecuencia de la necesidad de un medicamento que reduzca o elimine todo efecto secundario a su uso prolongado, a la falta de diferentes opciones de tratamiento y a la necesidad de un medicamento seguro. Es por ésto que la búsqueda de la actividad antifúngica es de importancia, ya que en ellas puede encontrarse una opción terapéutica adecuada, que además tendría la ventaja de una mayor disponibilidad del producto y un precio más accesible al paciente.

En la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala se han realizado varios estudios sobre plantas con actividad antifúngica contra dermatofitos por el grupo de Cáceres y colaboradores. Sin embargo no existe ningún estudio que evalúe la actividad antifúngica de extractos de plantas contra *Sporothrix schenckii*, ni contra otros hongos causantes de micosis subcutáneas. Por lo anterior es importante realizar un estudio que proporcione nuevas herramientas para la síntesis de

medicamentos o el uso del fitofármaco como sustituyente de productos químicos que son costosos y complicados de elaborar (48,49). Así también que sean productos altamente efectivos y reduzcan la mayor parte o la totalidad de los efectos secundarios que producen los medicamentos que actualmente se utilizan.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Demostrar la actividad antifúngica de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii*.

B. Objetivos específicos

1. Estandarizar el método de tamizaje *in vitro* para dermatofitos y adaptarlo para el óptimo crecimiento de *Sporothrix schenckii*
2. Determinar la actividad antifúngica *in vitro*, de los extractos etanólicos de las doce plantas en estudio contra *Sporothrix schenckii*, utilizando método estandarizado.
3. Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos de las plantas con actividad antifúngica.

VI. HIPÓTESIS

Por lo menos tres plantas estudiadas poseen actividad antifúngica *in vitro* contra el hongo *Sporothrix schenckii* en cualquiera de sus fases.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. UNIVERSO DE TRABAJO

Aislamientos de *Sporothrix schenckii* de muestras clínicas de pacientes proporcionadas por el Servicio de Micología, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Extractos etanólicos de doce plantas nativas guatemaltecas.

1. Muestra

Tres aislamientos de *Sporothrix schenckii*, confirmados en el Servicio de Micología por medio de cultivo en lámina.

Diecisiete extractos etanólicos de doce plantas nativas guatemaltecas, cuya actividad antifúngica contra la esporotricosis no ha sido estudiada con anterioridad, pero que se han seleccionado con base en dos criterios:

- Plantas de uso medicinal reportado contra enfermedades cutáneas sugestivas de micosis.
- Plantas de las cuales no se tiene registro de su actividad antifúngica, pero que poseen propiedades antibacterianas o antiparasitarias que las hacen efectivas para el tratamiento de otras afecciones.

Las plantas del estudio fueron las siguientes: *Cornutia pyramidata* (hoja y hierba), *Hypericum uliginosum* (hierba), *Lippia graveolens* (hoja), *Quercus crispifolia* (tallo y hoja), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Senna alata* (hoja), *Smilax domingensis* (hoja, tallo, raíz y flor), *Solanum americanum* (hoja), *Sterculia apetala* (hoja y corteza), *Tabebuia rosea* (hoja), *Tithonia diversifolia* (tallo) y *Valeriana prionophylla* (raíz).

2. Materiales

- a. Equipo
 - autoclave

- balanza analítica
- campana bacteriológica
- estufa
- incubadora
- mechero
- microscopio
- refrigeradora
- vortex (agitador)

b. Reactivos

- agar-agar
- agar saboraud
- agar BHI (infusión cerebro-corazón)
- agua desmineralizada
- anfotericina B
- dextrosa
- etanol 50%
- etanol 70%
- fenol 5%
- fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4)
- medio sintético de Takashio
- peptona
- sangre de carnero
- solución salina estéril
- sulfato de sodio (Na_2SO_4).

c. Materiales

- asa de nicromo en L
- beakers de 250 y 500 mL
- cajas de petri
- cámara de Neubauer

- campanillas de Durham
- erlenmeyer con tapón de rosca de 250 mL
- erlenmeyer de 500 mL
- fósforos
- frascos con tapón de rosca
- pipetas automáticas de 10 a 1000 μ l
- probeta de 100 mL
- tips amarillos de 10-200 μ l
- tubos de vidrio con tapadera de rosca de 15 mL

3. Procedimiento

a. Obtención del extracto de las plantas

Los extractos etanólicos de plantas utilizados en el estudio fueron proporcionados por el Laboratorio de Preparación de extractos y bioensayos del Departamento de Citohistología. Dichos extractos fueron obtenidos por percolación y concentración en rotavapor de material de la planta seca.

Se utilizó el método para hongos filamentosos descrito por Brancato y Golding modificado por MacRae para evaluar la actividad antifúngica. Previamente se estandarizó el manejo y cultivo de los aislamientos del hongo mediante una curva de crecimiento.

b. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las plantas contra la fase miceliar de *Sporothrix schenckii*.

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

- Se prepararon tubos con 13.5 mL de agar Saboraud los cuales se esterilizaron en autoclave a 121°C durante 15 minutos, dejando enfriar a 50°C para luego agregar 1.5

mL del extracto de la planta a ensayar (concentración de 10 mg/mL), y obtener una concentración final del extracto de 1 mg/mL.

- El medio de cultivo fue servido en cajas de petri estériles, dejando solidificar e incubándolos a 37°C durante 24 horas para comprobar esterilidad. Las cajas se guardaron en refrigeración hasta el momento de usarlas.

ii. Preparación del inóculo

- El medio Takashio para la esporulación del hongo se preparó con 0.6g de dextrosa, 0.3 g de Na₂SO₄, 0.3 g de KH₂PO₄, 0.3 g de peptona y 0.6 g de agar-agar, disuelto en 300 mL de agua desmineralizada.
- Se sirvió 6 mL del medio preparado en tubos con tapón de rosca, y luego se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 121°C y dejando solidificar con un ángulo de inclinación adecuado para la siembra.
- Para descartar contaminación el medio se incubó durante 24 horas a 37°C.
- El hongo se sembró con un asa de nicromo en L y fue incubado a 27°C durante 21 días hasta obtener un crecimiento homogéneo de la colonia.
- Se agregó a cada tubo de Takashio 2 mL de solución salina estéril y desprendió el hongo con el asa de nicromo.
- El material obtenido se trasvasó a tubos con tapón de rosca estériles, y luego se agitó durante 2 minutos en vortex para luego hacer un conteo de esporas en cámara de Neubauer.
- La suspensión de esporas preparada en solución salina fue de 100 esporas/μl (10 esporas por cuadrante).

iii. Inoculación del hongo

- Se abrieron agujeros en las cajas con agar-planta con campanillas de Durham estériles de 5 mm de diámetro.
- De la suspensión de esporas se tomaron 30 μ l y depositaron en los agujeros, las cajas se incubaron 27°C por 14 días, haciendo un total de ocho repeticiones.
- Como control negativo se utilizó una caja con agar Saboraud y etanol al 50%, donde el hongo creció en un 100%; y como control positivo una caja con agar Saboraud y anfotericina B (1 mg/mL), la cual inhibió el crecimiento del hongo totalmente.

iv. Interpretación de resultados

Los diámetros de las colonias del hongo fueron medidos en milímetros y la actividad se determinó de la siguiente manera:

Actividad positiva: extractos en los cuales el diámetro de la colonia fue 75% menor respecto al control negativo (100% de crecimiento).

Actividad negativa: extractos en los cuales la colonia creció más del 25% respecto al control negativo (crecimiento de 100%).

La anfotericina B, fue usada como control positivo de inhibición para el hongo (50).

c. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las plantas contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*

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

- Se preparó agar Infusión Cerebro Corazón (BHI) con 10% de sangre. En cada caja se sirvió 18 mL de agar y 2 mL de extracto (10 mg/mL) para una concentración final de 1 mg/mL.

- El medio se dejó solidificar, e incubó a 37°C por 24 horas para comprobar esterilidad. Las cajas se guardaron en refrigeración hasta el momento de su uso.

ii. Preparación del inóculo para la fase levaduriforme

- Se prepararon cajas con 20 mL agar BHI con sangre al 10% e incubaron a 37°C durante 24 horas para comprobar esterilidad.
- Para estimular la conversión del hongo de su fase micelias a la levaduriforme se sembró en el agar BHI con sangre durante 5 días a 37°C, ambiente de CO₂ y humedad hasta obtener un crecimiento uniforme.
- Se prepararon tubos con 5 mL de solución salina estéril y se inoculó la levadura hasta obtener una turbidez de 1 del estándar de MacFarland.

iii. Inoculación de levaduras en placa

- En las cajas con agar-planta se inoculó con el asa de nicromo en argolla la suspensión de levaduras, haciendo ocho estrías en el medio.
- Se incubó a 36°C durante 7 días.
- Para el control negativo se sembró por estrías la levadura en una caja de agar BHI sin extracto y como control positivo una caja con anfotericina B.

iv. Interpretación de resultados

Se observó el crecimiento de la levadura en el medio y se determinó como:

Actividad antilevadura positiva: Ausencia de crecimiento de la levadura en el agar planta.

Actividad antilevadura negativa: Presencia de crecimiento de la levadura en el agar planta (51).

4. Diseño Estadístico

a. Tipo de estudio

Experimental. Diseño no probabilístico, por conveniencia. La determinación y detección de la concentración de los extractos de las plantas que mostraron actividad antifúngica tuvo de base una concentración de 1mg/mL. Haciendo diluciones seriadas en los casos positivos se determinó la concentración inhibitoria mínima. Para el experimento, se realizaron ocho repeticiones de la actividad antifúngica de cada planta.

b. Variables de interés

Variable independiente: plantas nativas guatemaltecas

Variable dependiente: actividad antifúngica o antilevadura de los extractos etanólicos de doce plantas seleccionadas.

c. Validación de método

Actividad antifúngica de la fase miceliar: Se utilizó como control positivo agar Sabraud con anfotericina B en una concentración de 1 mg/mL, la cual presentó un 100% de inhibición del hongo *Sporothrix schenckii* y como control negativo agar Sabraud con etanol al 50%, donde hubo un crecimiento óptimo del hongo. Se realizaron ocho repeticiones de cada ensayo (50,52).

Actividad antifúngica de la fase levaduriforme: se utilizó como control positivo agar BHI con anfotericina B y como control negativo agar BHI con etanol al 50%, donde hubo un crecimiento óptimo de la levadura. Se realizaron ocho repeticiones de cada ensayo (50).

d. Análisis de datos

Los datos fueron tabulados y posteriormente analizados de acuerdo a los parámetros anteriormente descritos. El tipo de estudio es binomial, por lo cual se aplicó la prueba de hipótesis binomial, tanto para el tamizaje inicial, como en la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM).

De acuerdo a este diseño estadístico y al número de repeticiones para cada bioensayo corresponde un p de 0.038, lo que se interpreta como un 96.2% de confiabilidad en los resultados.

VIII. RESULTADOS

A. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

Se prepararon diecisiete extractos etanólicos de doce plantas nativas guatemaltecas de uso medicinal (contra enfermedades cutáneas sugestivas de micosis, antibacterianas o antiparasitarias, que las hacen efectivas para el tratamiento de estas afecciones). El porcentaje de rendimiento se calculó en base los gramos de extracto obtenidos y el peso del material vegetal seco, como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1
Extractos de plantas seleccionadas para el tamizaje antifúngico contra
Sporothrix schenckii

Especie	Parte	Procedencia	No. Herbario *	Rendimiento
<i>Cornutia pyramidata</i>	hoja	Cobán	724	15.60
<i>Hypericum uliginosum</i>	hierba	Tacaná	970	19.50
<i>Lippia graveolens</i>	hoja	Las Minas	604	9.20
<i>Quercus crispifolia</i>	hoja	Las Minas	754	5.60
<i>Quercus crispifolia</i>	tallo	Las Minas	754	16.80
<i>Salvia lavanduloides</i>	hoja / flor	Tacaná	735	17.70
<i>Senna alata</i>	hoja	Samayac	154	17.77
<i>Smilax domingensis</i>	hoja	Samayac	662	34.1
<i>Smilax domingensis</i>	tallo	Samayac	662	40.4
<i>Smilax domingensis</i>	raíz	Samayac	662	21.50
<i>Smilax domingensis</i>	flor	Samayac	662	57.52
<i>Solanum americanum</i>	hoja	Samayac	294	6.72
<i>Sterculia apetala</i>	hoja	Flores, Petén	280	10.22
<i>Sterculia apetala</i>	corteza	Flores, Petén	280	23.56
<i>Tabebuia rosea</i>	hoja	Jalapa	343	10.1
<i>Tithonia diversifolia</i>	tallo	Samayac	684	11.39
<i>Valeriana prionophylla</i>	raíz	Nebaj	906	37.00

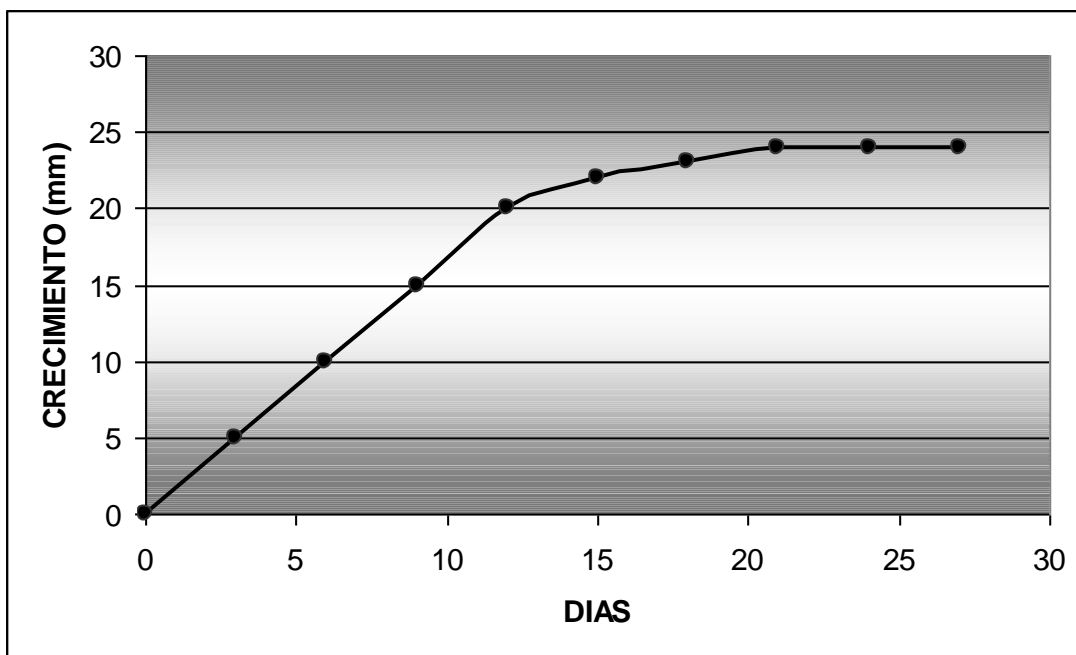
* Número de herbario proporcionado por FARMAYA

B. VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA

El método para hongos filamentosos descrito por Brancato y Golding modificado por MacRae fue adaptado para el crecimiento de *Sporothrix schenckii*. Se obtuvo una curva de crecimiento, donde el desarrollo máximo de la colonia fue a los 21 días de incubación (Gráfica 1).

Gráfica 1

Curva de crecimiento de la fase miceliar de *Sporothrix schenckii*



C. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

El tamizaje antifúngico para la fase miceliar del *Sporothrix schenckii* demostró actividad positiva para los extractos de hoja *Lippia graveolens* y raíz de *Valeriana prionophylla* a una concentración de 1 mg/mL ($p=0.038$), tal como se muestra en la tabla 2. Los restantes extractos de *Cornutia pyramidata* (hoja), *Hypericum uliginosum* (hierba), *Quercus crispifolia* (tallo y hoja), *Salvia*

lavanduloides (hoja-flor), *Senna alata* (hoja), *Smilax domingensis* (hoja, tallo, raíz y flor), *Solanum americanum* (hoja), *Sterculia apetala* (hoja y corteza), *Tabebuia rosea* (hoja) y *Tithonia diversifolia* (tallo) no presentaron actividad contra la fase micelias a dicha concentración (Tabla 2).

Tabla 2

Tamizaje antifúngico de los 17 extractos seleccionados contra la fase micelias de *Sporothrix schenckii*

Especie	Parte	Aislamiento 19	Aislamiento 271	Aislamiento 561
<i>Cornutia pyramidata</i>	hoja	-	-	-
<i>Hypericum uliginosum</i>	hierba	-	-	-
<i>Lippia graveolens</i>	hoja	+	+	+
<i>Quercus crispifolia</i>	hoja	-	-	-
<i>Quercus crispifolia</i>	tallo	-	-	-
<i>Salvia lavanduloides</i>	hoja / flor	-	-	-
<i>Senna alata</i>	hoja	-	-	-
<i>Smilax domingensis</i>	hoja	-	-	-
<i>Smilax domingensis</i>	tallo	-	-	-
<i>Smilax domingensis</i>	raíz	-	-	-
<i>Smilax domingensis</i>	flor	-	-	-
<i>Solanum americanum</i>	hoja	-	-	-
<i>Sterculia apetala</i>	hoja	-	-	-
<i>Sterculia apetala</i>	corteza	-	-	-
<i>Tabebuia rosea</i>	hoja	-	-	-
<i>Tithonia diversifolia</i>	tallo	-	-	-
<i>Valeriana prionophylla</i>	raíz	+	+	+

(+) Actividad positiva a una concentración de 1 mg/mL

(-) Actividad negativa a una concentración de 1 mg/mL

A los extractos de hoja de *Lippia graveolens* y raíz de *Valeriana prionophylla* que presentaron actividad antifúngica contra la fase micelar de *Sporothrix schenckii* se les determinó concentración inhibitoria mínima (CIM), obteniéndose un resultado de 0.1 mg/mL y 0.025 respectivamente ($p=0.038$), como se detalla en la tabla 3.

Tabla 3

Concentración inhibitoria mínima de los extractos que mostraron actividad a una concentración menor a 1 mg/mL contra la fase micelar de *Sporothrix schenckii*

Especie	Parte	Aislamiento 19	Aislamiento 271	Aislamiento 561
<i>Valeriana prionophylla</i>	hoja	0.025	0.025	0.025
<i>Lippia graveolens</i>	raíz	0.1	0.1	0.1

Concentración en mg/mL

En el tamizaje de los extractos contra la fase levaduriforme se obtuvo actividad positiva en los extractos de *Hypericum uliginosum* (hierba), *Lippia graveolens* (hoja), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Senna alata* (hoja), *Smilax domingensis* (tallo) y *Valeriana prionophylla* (raíz) a una concentración menor de 1 mg/mL ($p=0.038$), lo que se detalla en la tabla 4.

Tabla 4
 Tamizaje antifúngico de los 17 extractos seleccionados contra la fase
 levaduriforme de *Sporothrix schenckii*

Especie	Parte	Aislamiento 19	Aislamiento 271	Aislamiento 561
<i>Cornutia pyramidata</i>	hoja	-	-	-
<i>Hypericum uliginosum</i>	hierba	+	+	+
<i>Lippia graveolens</i>	hoja	+	+	+
<i>Quercus crispifolia</i>	hoja	-	-	-
<i>Quercus crispifolia</i>	tallo	-	-	-
<i>Salvia lavanduloides</i>	hoja / flor	+	+	+
<i>Senna alata</i>	hoja	+	+	+
<i>Smilax domingensis</i>	hoja	-	-	-
<i>Smilax domingensis</i>	tallo	+	+	+
<i>Smilax domingensis</i>	raíz	-	-	-
<i>Smilax domingensis</i>	flor	-	-	-
<i>Solanum americanum</i>	hoja	-	-	-
<i>Sterculia apetala</i>	hoja	-	-	-
<i>Sterculia apetala</i>	corteza	-	-	-
<i>Tabebuia rosea</i>	hoja	-	-	-
<i>Tithonia diversifolia</i>	tallo	-	-	-
<i>Valeriana prionophylla</i>	raíz	+	+	+

(+) Actividad positiva a una concentración de 1 mg/mL

(-) Actividad negativa a una concentración de 1 mg/mL

A los extractos con actividad antilevadura positiva se les determinó la CIM, siendo de 0.25 mg/mL para *Hypericum uliginosum* (hierba) y *Smilax domingensis* (tallo); y de 0.5 mg/mL para *Lippia graveolens* (hoja), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Senna alata* (hoja) y *Valeriana prionophylla* (raíz), ($p=0.0.38$), ver tabla 5.

Tabla 5
 Concentración inhibitoria mínima de los extractos con actividad menor a 1
 mg/mL contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*

Especie	Parte	Aislamiento 19	Aislamiento 271	Aislamiento 561
<i>Hypericum uliginosum</i>	hierba	0.25	0.25	0.25
<i>Lippia graveolens</i>	hoja	0.5	0.5	0.5
<i>Salvia lavanduloides</i>	hoja / flor	0.5	0.5	0.5
<i>Senna alata</i>	hoja	0.5	0.5	0.5
<i>Smilax domingensis</i>	tallo	0.25	0.25	0.25
<i>Valeriana prionophylla</i>	raíz	0.5	0.5	0.5

Concentración en mg/mL

IX. DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó la actividad contra el hongo subcutáneo *Sporothrix schenckii* de diecisiete extractos provenientes de doce plantas nativas guatemaltecas. Por ser éste un hongo dimórfico, el ensayo se realizó tanto para la fase miceliar (saprofítica) como para la levaduriforme (parasítica).

El bioensayo de la fase miceliar fue una adaptación de la metodología de Brancato & Goldin modificada por MacRae para hongos filamentosos una vez obtenido el crecimiento óptimo de *Sporothrix schenckii*, sembrando el hongo se en medio Takashio para la inducción de esporas. Posteriormente se sembraron las esporas en agar Sabouraud y se realizaron mediciones del diámetro de la colonia cada 3 días, durante 27 días. El hongo se desarrolló adecuadamente según la metodología, obteniéndose un crecimiento máximo de la colonia después de 21 días de incubación (Gráfica 1).

Doce plantas provenientes de distintos lugares del país fueron seleccionadas para el estudio basándose en dos criterios: primero, plantas que contaran con registro de actividad antifúngica contra hongos filamentosos o que fueran utilizadas en afecciones dérmicas (desinfección de heridas, eczemas y granos, entre otras); y segundo, plantas de las cuales no se tiene registro de actividad antifúngica, pero que poseen propiedades antibacterianas o antiparasitarias, con potencial efectividad para el tratamiento de la esporotricosis. Las plantas ensayadas fueron *Cornutia pyramidata* (hoja), *Hypericum uliginosum* (hierba), *Lippia graveolens* (hoja), *Quercus crispifolia* (tallo y hoja), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Senna alata* (hoja), *Smilax domingensis* (hoja, tallo, raíz y flor), *Solanum americanum* (hoja), *Sterculia apetala* (hoja y corteza), *Tabebuia rosea* (hoja), *Tithonia diversifolia* (tallo) y *Valeriana prionophylla* (raíz). Se ensayó finalmente un total de 17 extractos etanólicos a los cuales se les determinó su porcentaje de rendimiento en base a la cantidad de extracto obtenido a partir del material vegetal seco utilizado. El extracto de mayor rendimiento fue el de la flor de *Smilax domingensis* (57.52%),

lo que implica ya que puede obtenerse mayor cantidad de extracto para estudio a partir de cantidades menores de materia prima.

Cada una de las plantas estudiadas cuenta con un registro de identificación y clasificación que corresponde al número de herbario proporcionado por el Laboratorio Farmaya (Tabla 1).

En las Tablas 2 y 4 se muestran los resultados del tamizaje de la actividad antifúngica de los extractos, considerando como punto de corte una concentración de 1 mg/mL. La fase miceliar del hongo fue susceptible a dos extractos (hoja de *Lippia graveolens* y raíz de *Valeriana prionophylla*) y la fase levaduriforme a seis (hoja de *Lippia graveolens*, hoja de *Senna alata*, hierba de *Hypericum uliginosum*, hoja-flor de *Salvia lavanduloides*, tallo de *Smilax domingensis* y raíz de *Valeriana prionophylla*).

La fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii* es más susceptible a los extractos, lo que puede deberse a la cantidad de ergosterol presente en la pared celular del hongo, la cual es menor en una levadura que en el micelio de un hongo. Es posible que los compuestos activos presentes en los extractos de las plantas inhiban la biosíntesis de ergosterol o de otros esteroides, lesionando la pared celular fúngica y alterando su permeabilidad; como consecuencia se produce la pérdida de elementos intracelulares esenciales. Otro posible mecanismo antifúngico es la inhibición de la biosíntesis de triglicéridos y fosfolípidos o la inhibición de la actividad enzimática oxidativa y peroxidativa, lo que conlleva a la acumulación de concentraciones tóxicas de peróxido de hidrógeno, que contribuyen al deterioro de los órganos subcelulares y necrosis celular (53-55). Sin embargo, no se puede definir el mecanismo de acción de los extractos activos ya que aún no se cuenta con el compuesto puro al que se le atribuya la actividad en forma precisa, ni con los bioensayos específicos que lo comprueben.

A los extractos con actividad antifúngica se les determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM), haciendo diluciones seriadas del extracto. Se obtuvo para la fase miceliar una concentración de 0.1 mg/mL con la hoja de *Lippia graveolens* y de 0.025 mg/mL con la raíz de *Valeriana prionophylla*. La actividad

contra la fase levaduriforme para los extractos de *Lippia graveolens* (hoja), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Senna alata* (hoja) y *Valeriana prionophylla* (raíz) fue de 0.5 mg/mL y de 0.25 mg/mL para *Hypericum uliginosum* (hierba) y *Smilax domingensis* (tallo). La razón por la cual un extracto actúa a cierta concentración aún se desconoce, pero se le puede atribuir al mecanismo de acción de los compuestos presentes en los extractos de las plantas y a la susceptibilidad de la célula fúngica ante ellos.

Los únicos dos extractos que presentaron actividad contra ambas fases del hongo fueron *Lippia graveolens* y *Valeriana prionophylla* aunque en distinta concentración. Para la fase miceliar la CIM fue de 0.1 y 0.025 mg/mL respectivamente y en la levaduriforme de 0.5 mg/mL para ambas plantas.

Es importante destacar que todas las plantas que presentaron actividad contra cualquiera de las dos fases de *Sporothrix schenckii* poseen registro de uso medicinal en afecciones de la piel o tratamiento de heridas. Así también, el hecho que, de las tres plantas documentadas con propiedades antifúngicas, dos fueron positivas contra la fase levaduriforme del hongo (*Senna alata* y *Smilax domingensis*); lo anterior confirma aún más su eficacia en el tratamiento de este tipo de afecciones dérmicas (22,38,39).

Existen otros estudios previos de actividad antifúngica en donde se ha reportado actividad de los extractos de *Valeriana prionophylla* y *Smilax domingensis* contra *Trichophyton rubrum* y de *Senna alata* contra *Microsporum gypseum*; sin embargo su actividad contra *Sporothrix schenckii* no había sido evaluada. Por lo tanto, en vista de los resultados obtenidos en este estudio se puede reafirmar su eficacia antifúngica contra un agente patógeno más. En ambos estudios se utilizó raíz de *Valeriana prionophylla* y hoja de *Senna alata*, lo que sugiere que los compuestos activos se encuentran en dichas partes botánicas. Por otro lado, en el caso de *Smilax domingensis*, fue el rizoma el que presentó actividad contra *Trichophyton rubrum* y para *Sporothrix schenckii* fue el tallo (22).

La diferencia entre la actividad que pueden presentar los distintos órganos de una misma planta puede explicarse en base a la composición y distribución

de los compuestos presentes en ésta; por ejemplo, se sabe que el contenido de la raíz de *Valeriana prionophylla* está formado por un aceite esencial complejo formado por alcoholes, ácidos orgánicos y alcaloides, mientras que el aceite del tallo es mucho más simple (22).

El extracto de *Valeriana prionophylla* fue el que presentó mejor actividad contra el hongo (tanto en la fase levaduriforme como miceliar) con una CIM de 0.025 mg/mL sin embargo, es *Lippia graveolens* el extracto con mayor actividad biocida registrada por otros estudios; se reporta actividad contra los hongos: *Aspergillus flavus*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum* y *Trichophyton rubrum*; levaduras como *Candida albicans*, parásitos tales como *Trypanosoma cruzi*, *Leshmania mexicana* y *Leshmania braziliensis*; bacterias tales como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. También ha resultado con actividad citotóxica contra nauplios de *Artemia salina*. Para esta especie no hay aún estudios fitoquímicos concluidos, pero ya se han identificado hasta el momento flavonoides y alcaloides (56). *Valeriana prionophylla* por su parte tiene actividad registrada contra *Trypanosoma cruzi*, *Micobacterium smegmatis* y *Criptococcus neoformans* y estudios fitoquímicos donde se reporta la composición de su aceite esencial y la presencia de valepotriatos (22,57).

X. CONCLUSIONES

1. El método de Brancato & Golding modificado por MacRae para el tamizaje de hongos filamentosos es perfectamente adaptable para el hongo subcutáneo *Sporothrix schenckii*.
2. Los tres extractos del estudio con reporte de actividad antifúngica presentaron actividad contra alguna de las fases de *Sporothrix schenckii*. *Lippia graveolens* y *Valeriana prionophylla* presentan actividad antifúngica contra la fase miceliar; *Lippia graveolens* (hoja), *Senna alata* (hoja), *Valeriana prionophylla* (raíz), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Hypericum uliginosum* (hierba) y *Smilax domingensis* (tallo) fueron los extractos con actividad antilevadura para *Sporothrix schenckii*.
3. El extracto de hoja de *Valeriana prionophylla* presentó la mejor actividad antifúngica contra *Sporothrix schenckii* en su fase miceliar (0.025 mg/mL).
4. En el ensayo de la actividad antilevadura, *Hypericum uliginosum* (hierba) y *Smilax domingensis* (tallo) son los extractos que presentan mejores resultados (0.25 mg/mL).
5. Basándose en la cantidad de extractos positivos para cada una de las fases del hongo, la fase levaduriforme es más susceptible a los compuestos presentes en las plantas responsables de la actividad antifúngica.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar el fraccionamiento de los extractos de *Lippia graveolens* (hoja), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Senna alata* (hoja), *Valeriana prionophylla* (raíz), *Hypericum uliginosum* (hierba) y *Smilax domingensis* (tallos) con el objetivo de identificar el compuesto activo responsable de la actividad antifúngica contra *Sporothrix schenckii*.
2. Determinar la actividad antifúngica contra *Sporothrix schenckii* tanto en su fase micelial como levaduriforme de otros extractos de plantas nativas guatemaltecas, con el propósito de contar con mayor diversidad de opciones para el tratamiento de la esporotricosis.
3. Montar bioensayos para identificar los mecanismos de acción de los extractos con actividad antifúngica positiva.

XII. REFERENCIAS

1. Esporotricosis. Disponible en www.seime.org/control/revi-Micol/esporo.htm>. Fecha de consulta: noviembre 2002.
2. Rippon JW. Micología Médica; Hongos y Actinomicetos patógenos. 3.ed. México: Interamericana, McGraw Hill, S.A. de C.V, 1990. 854p.
3. Zamarripa A. *Sporothrix schenckii*: Aspectos bioquímicos y morfológicos. IV Congreso de Micología: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México (UNAM), Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guanajuato. México D.F.
4. Mesa AC. *et al.* Tipificación de aislados clínicos de *Sporothrix schenckii* de diferentes orígenes geográficos. IV Congreso Nacional de Micología: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México (UNAM). México D.F.
5. Logemann H. Manual Práctico de Micología Médica. Guatemala: Bayer, 1995. 227p.
6. Villagran GE. Micosis más frecuentes en el Hospital Nacional de Cuilapa. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1991. 33p.
7. Gambony ER. Esporotricosis en el Hospital Nacional de Occidente. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1982. 22p
8. Ortiz JL. Prevalencia de Micetomas, esporotricosis y cromomicosis en el Hospital Nacional Pedro Betancourth de la Antigua Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1992. 25p.
9. Anaissi EJ, McGinnis MR. Pfaller MA. Clinical Mycology. USA: Churchill Livingstone, 2003. 608p.

10. Donabedian H. *et al.* Disseminated cutaneous and meningeal Sporotrichosis in an AIDS patient. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994. 18:111-115.
11. Stites D. *et al.* *Inmunología Básica y Clínica*. 9ed. México: Manual Moderno, S.A. de C.V., 1998. 1080p.
12. Smith CM, Reyard AM. *Farmacología*. Argentina: Médico Panamericano, 1995. 1135p.
13. Torres, BM. *et al.* Efecto del yoduro de potasio sobre la respuesta inmune en la esporotricosis. *Iberoamericana Micol* 1997. 14:98-100.
14. Teixidor JR. *et al.* *Medicina Interna*. Barcelona: Masson, S.A., 1998. 1938p.
15. Ayats Ardite J. *Sporothrix schenckii*. Disponible en www.seimc.org/cpmtrp:/redy/Myco/esporo.htm. Fecha de consulta: enero de 2003.
16. Datzung BG. *Farmacología básica y clínica*. 8ed. México: El Manual Moderno, 2002. 1346p
17. Tratamiento de Esporotricosis. Disponible en www.galderma.com.mx. Fecha de consulta noviembre de 2002.
18. Mizzau D. El arte de curar con plantas en el hombre. Disponible en www.fundacer.com.arg. Fecha de consulta enero de 2003.
19. Plantas medicinales en farmacia. Disponible en www.cof.es. Fecha de consulta enero de 2002.
20. Arteché A. Historia de la medicina naturista española. Disponible en www.fitoterapia.net. Fecha de consulta enero de 2003.
21. Flores R. *Atlas de las plantas medicinales y curativas*. Barcelona: Cultural, S.A. 1997. 110p.
22. Cáceres A. *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria, 1996. 402p.
23. Naranjo P. *Medicina Indígena y Popular de América Latina y Medicina Contemporánea*. Guatemala: Instituto Indigenista Nacional, Vol XIII, 1978. 617p.

24. Cáceres A, Saravia A. Actividad antifúngica de plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria (Cuaderno de investigación 7-92, Dirección General de Investigación DIGI, USAC) 1993. 89p.
25. Standley PC, Williams LO. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Bonany, vol 24, Vol. 9, 3-4, 1973. 417p.
26. Robineau-Germosen L. Farmacopea caribeña. Martinica: Emile Désormeaux, 1996. 113-114 p.
27. Comerford SC. Medicinal Plants of two Mayan healers from San Andres, Petén. Guatemala. Econ Bot 1996; 50:327-336.
28. Guevara CI. Plantas Medicinales utilizadas por los Itzaes, San José Petén. Guatemala: Asociación Biotzá, 2001. 118p.
29. *Cornutia pyramidata*. Disponible en www.mapn.org/guatemala02-ec.htm. Fecha de consulta octubre de 2002.
30. Standley PC, Williams LO. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Bonany, vol 24, Vol. 7 1961. 281p.
31. Martínez JV. *et al.* Fundamentos de agrotecnología, de cultivo de plantas medicinales Iberoamericanas. Bogotá: CYTED 2000, 524p.
32. Standley PC, Williams LO. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Bonany, vol 24, Vol. 9 1-2, 1970. 236p.
33. Standley PC, Steyermark JA. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Bonany, vol 24, Vol. 3, 1952. 431p.
34. *Quercus crispifolia*. Disponible en <http://plantas.Metropoliglobal.com> Fecha de consulta octubre de 2002.
35. Ini. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 1994. 1:16
36. House PR. Plantas Medicinales Comunes en Honduras. Tegugigalpa: UNAH/CIMN-/H/CID/CHR/GTZ. 1995. 407 p.
37. Standley PC, Steyermark JA. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Bonany, vol 24, Vol. 5, 1946 285p.

38. James AD. Isthmian, Ethnobotanical Dictionary. 3.ed. Scientifica Publisher. India 1986. 41p.
39. Davidse, G *et al* Flora Mesoamericana. México: Universidad Autónoma de México, vol 6. 1995. 543p.
40. Gentry JL, Standley PC. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Bonany, vol 24, Vol. 10, 1974. 152p.
41. Standley PC, Steyermark JA. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Bonany, vol 24, Vol. 6, 1949. 438p.
42. Girón LM, *et al*. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by de Caribs of Guatemala. Journal of Ethnopharmacology 1991; 34:173-187.
43. Morton JF. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Springfield: Charles C. Thomas Publisher, 1981. 1420p.
44. Standley PC, Williams LO. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Bonany, vol 24, vol. 10, Vol. 3,4. 1974. 465p.
45. Nash DL, Williams LO. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Bonany, vol 24, vol. 12 1976. 603p.
46. Nash DL, Dieterle J. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana Bonany, vol 24, vol. 11, Vol. 4, 1976. 431p.
47. *Valeriana pryonophylla*. Disponible en www.goncevator.pesquelacalma.prensalibre/ii. 16975:59-60
48. Girón LM. *et al*. Actividad anticandida de plantas usadas para el tratamiento de vaginitis en Guatemala y la relevancia del uso de *Solanum nigrecens*. Journal of Ethnopharmacology 1988; 22:307-313.
49. GuoHe X. *et al*. Componente antifúngico de *Solanum nigrecens*. Journal of Ethnopharmacology 1994; 43:173-177.
50. Brancato FP, Golding NS. The Diameter of the Mold Colony as a Reliable Measure of Growth. J of Mycol 1953 45:848-863.
51. 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.

52. Janssen AM, Scheffer JJC, Baerheim SA. Screening for antifungal activity of nineteen Latin American plants. *Phytotherapy research* 1998 12:427-430.
53. Hongos patógenos. Disponible en www.danival.org. Fecha de consulta: octubre 2004
54. Antifúngicos y su mecanismos de acción. Disponible en: www.hsmq.cl/farmacia/farm022.htm. Fecha de consulta: octubre de 2004.
55. Antifúngicos. Disponible en: www.facmed.unam.mx. Fecha de consulta: octubre de 2004.
56. Cruz SM, Comunicación Oral. LIPRONAT. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Octubre 2004.
57. Proyecto de Aprovechamiento de la Flora Regional OEA. Guatemala 2001-2002.