



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**FACULTAD DE ENFERMERÍA**

**ACTIVIDAD DE PLANTAS MEDICINALES CONTRA DERMATOFITOS Y SU USO  
ALTERNATIVO EN DERMATOFITOSIS DE TRATAMIENTO TÓPICO**

**Tesis que para obtener el Grado de  
MAESTRA EN SALUD PÚBLICA**

**Presenta**

**Q.F.B. ALICIA ZAVALZA STIKER**

**Comité de Tesis:**

**M.C.A. NORMA CECILIA CÁRDENAS ORTEGA  
M.S.P. RAÚL MARTÍNEZ ZÚÑIGA**

**San Luis Potosí, S.L.P., Noviembre de 2001**





**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**FACULTAD DE ENFERMERÍA**

**ACTIVIDAD DE PLANTAS MEDICINALES CONTRA DERMATOFITOS Y SU USO  
ALTERNATIVO EN DERMATOFITOSIS DE TRATAMIENTO TÓPICO**

**Tesis que para obtener el Grado de  
MAESTRA EN SALUD PÚBLICA**

**Presenta**

**Q.F.B. ALICIA ZAVALZA STIKER**

**Comité de Tesis:**

**M.C.A. NORMA CECILIA CÁRDENAS ORTEGA  
M.S.P. RAÚL MARTÍNEZ ZÚÑIGA**

**San Luis Potosí, S.L.P., Noviembre de 2001**

*“Las limitaciones surgen, mas  
que por falta de recursos, por  
miseria de voluntades”*

Anónimo

## DEDICATORIAS

Con todo amor y ternura a mi padre, el Dr. Edmundo Zavalza Martínez, guía espiritual de mi vida, cuyo sufrimiento de los últimos tiempos se ha convertido en el crisol de mi alma.

A la dulce memoria de la madre admirable que tuve la oportunidad de gozar, la Sra. María del Refugio Stiker de Zavalza.

Con el más grande amor a la hermosa familia con que Dios me ha bendecido, mi esposo José de Jesús Villalobos Gasca y mis hijos Rocío, Lichis y Chuyín, por su reciprocidad a mi cariño, por comprensión al perdonar las largas horas de ausencia y por su bondad al asumir las tareas no cumplidas.

A mis amados hermanos, compañeros leales en las buenas y en las malas: Silvia, Celia, Luz María, Edmundo, Sergio y Roberto.

A todos mis sobrinos, porque su alegría da una luz a mi vida que me ayuda seguir siempre adelante.

Con mucho cariño a dos personas que a pesar de que no tenemos la misma sangre son parte de mi familia: Amparo y Gladys.

A todas mis amigas y amigos con los que puedo compartir los éxitos y fracasos, y que con una acción, palabra, u oración, siempre me acompañan.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por brindarme esta oportunidad de superación profesional.

A la M.C.A. Norma Cecilia Cárdenas Ortega y al M.S.P. Raúl Martínez Zúñiga, por su apoyo, sus inapreciable enseñanzas y el privilegio de su sabia dirección.

Al Director de la Facultad de Ciencias Químicas Dr. Jorge Fernando Toro Vázquez por todas las amplias facilidades concedidas en el uso de los laboratorios y equipos necesarios en el desarrollo del trabajo.

Al Taxónomo José García del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la U.A.S.L.P., por la identificación y registro de las especies comprendidas en el estudio.

Al M. V. Roberto Torres Ramírez por su imprescindible colaboración en el cuidado de los animales utilizados en el ensayo *in vivo*.

Al Dr. Benito Torres Ruvalcava por su atinada orientación en el análisis estadístico de los resultados

A la Q.F.B. Blanca Ortiz Saldivar por el impulso y respaldo en el logro de mis ideales.

En forma muy especial a los alumnos de la carrera de Q.F.B.: Éricka García Chávez, Elizabeth Zavala Hernández, Ana Silvia Pérez Martínez y Oscar Almada Lara por su colaboración en el desarrollo metodológico de la investigación.

Al M.C. Alejandro Bonifaz por la valiosa información proporcionada para la estructuración del estudio y sobretodo por su amistad incondicional.

A mis maestros por todas sus enseñanzas y por su generosidad al compartir sus muchas experiencias.

A todas las personas que de alguna forma contribuyeron a la realización de este trabajo.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
1. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 LA HERBOLARIA.....	4
2.1.1 <i>La herbolaria en México a través de la historia</i> .....	4
2.1.2 <i>Investigación científica de la herbolaria en México</i> .....	6
2.1.3 <i>Investigaciones recientes en México de plantas medicinales</i> .....	8
2.1.4 <i>La herbolaria y su potencial antifúngico</i> .....	9
2.2 DERMATOFITOSIS.....	11
2.2.1 <i>Importancia de las dermatofitosis en salud pública</i> .....	12
2.2.2 <i>Aspectos epidemiológicos más importantes de las dermatofitosis</i> .....	12
2.2.3 <i>Cuadros clínicos de las dermatofitosis y su frecuencia</i> .....	13
2.2.4 <i>Tratamiento de las dermatofitosis y tendencias actuales</i> .....	15
2.2.5 <i>Dermatofitosis en especies animales inferiores</i> .....	15
2.3. ESPECIES VEGETALES EN ESTUDIO.....	17
2.3.1 <i>Larrea tridentata (DC.) Cov.</i> .....	17
2.3.2 <i>Citrus arantiifolia (Chist.) Swingle</i> .....	20
2.3.3 <i>Chrysactinia mexicana A. Gray</i> .....	22
2.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA.....	24
2.4.1 <i>Evaluación de la actividad antimicótica in vitro</i> .....	24
2.4.2 <i>Evaluación de la actividad antimicótica in vivo</i> .....	25
3. OBJETIVOS.....	26
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4. METODOLOGÍA.....	27

4.1 DETERMINACIÓN DE LA ACCIÓN ANTIMICÓTICA <i>IN VITRO</i> .....	27
4.1.1 <i>Diseño del modelo experimental</i> .....	27
4.1.2 <i>Hipótesis</i> .....	27
4.1.3 <i>Preparación de los extractos de las plantas</i> .....	27
4.1.4 <i>Preparación del inóculo</i> .....	29
4.1.5 <i>Evaluación de la actividad antimicótica in vitro</i> .....	29
4.2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA.....	30
4.3 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA <i>IN VIVO</i> EN UN MODELO ANIMAL.....	31
4.3.1 <i>Diseño del modelo experimental</i> .....	31
4.3.2 <i>Hipótesis</i> .....	31
4.3.2 <i>Muestra</i> .....	32
4.3.3 <i>Evaluación de la actividad antimicótica in vivo</i> .....	32
4.3.4 <i>Consideraciones éticas</i> .....	33
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>34</b>
5.1 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA <i>IN VITRO</i> .....	34
5.2 CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA.....	35
5.3 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA <i>IN VIVO</i> EN UN MODELO ANIMAL.....	41
<b>6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>45</b>
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>8. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>50</b>
<b>9. LIMITANTES.....</b>	<b>52</b>
<b>10. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>53</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Características del proceso de recolección de las plantas en estudio.....	28
Tabla 2 Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antimicótica <i>in vitro</i> contra <i>T. rubrum</i> .....	34
Tabla 3 Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antimicótica <i>in vitro</i> contra <i>M. canis</i> .....	34



## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1 Actividad de los extractos hexánicos y etanólicos de <i>C. Mexicana</i> , <i>L. Tridentata</i> y <i>C. Aurantiifolia</i> contra <i>T. rubrum</i> .....	37
Gráfica 2 Actividad de los extractos hexánicos y etanólicos de <i>C. mexicana</i> , <i>L. tridentata</i> y <i>C.aurantiifolia</i> contra <i>M. canis</i> .....	39
Gráfica 3 Evolución clínica del ensayo <i>in vivo</i> .....	43
Gráfica 4 Evolución micológica del ensayo <i>in vivo</i> .....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Especies vegetales en estudio.....	18
Figura 2 Actividad <i>in vitro</i> sobre <i>T. rubrum</i> .....	36
Figura 3 Actividad <i>in vitro</i> sobre <i>M. canis</i> .....	38
Figura 4 Determinación de la Concentración Mínima Fungicida.....	40
Figura 5 Actividad antimicótica <i>in vivo</i> del extracto hexánico de <i>C. mexicana</i> A. Gray.....	42

## RESUMEN

En busca de alternativas terapéuticas para las dermatofitosis, se valoró experimentalmente la actividad antimicótica *in vitro* contra dermatofitos de los extractos etanólicos y hexánicos de *Larrea tridentata* (DC.) Cov., *Chrysactinia mexicana* A. Gray y *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle. Se encontró actividad en cinco de ellos, misma que fue significativamente superior (ANOVA y Tukey,  $p < 0.05$ ) para los extractos hexánicos de *L. tridentata* y *C. mexicana*. Se determinó la Concentración Mínima Fungicida de estos dos últimos, la más alta fue de 125 mg /100 ml contra *M. canis*. Se valoró también su actividad *in vivo* en conejos infectados y no hubo diferencia significativa (Kolmogorov-Smirnov y Bonferroni) entre los resultados obtenidos y el uso de miconazol al 1% ( $p > 0.05$ ). No se presentaron reacciones secundarias y en los tres grupos tratados hubo recaídas: miconazol 16.6%, *L. tridentata* 33.3% y *C. mexicana* 60%.

Palabras claves: dermatofitosis, antimicótica, *Larrea tridentata*, *Chrysactinia mexicana* y *Citrus aurantiifolia*.

## ABSTRAC

As therapeutic alternatives for dermatophytoses, we evaluated the in vitro antimicrobial activity of ethanolic and hexanolic extracts of *Larrea tridentata* (DC.) Cov., *Chrysactinia mexicana* A. Gray and *Citrus aurantiifolia* (Chryst.) Swingle. We found that five of the extracts displayed antimicrobial activity, from which hexanolic extracts from *L. tridentata* and *C. mexicana* displayed the highest activity ( $p < 0.05$ , by ANOVA and Tukey's tests). The Minimal Fungicidal Activity of the last two extracts tested, on *Microsporum canis* resulted of 125 mg/100 ml. Their *in vivo* activity was evaluated in infected rabbits and showed equivalent activity to that of 1% miconazol ( $p > 0.05$ , Kolmogorov-Smirnov and Bonferroni tests). No secondary reactions were observed in the animal, and diverse proportion of recurrent infections were observed in all of the three treated groups: miconazol 16.6%, *L. tridentata* 33.3% and *C. mexicana* 60%.

Key words: dermatophytoses, antimicrobial, *Larrea tridentata*, *Chrysactinia mexicana*, *Citrus aurantiifolia*.

## INTRODUCCIÓN

La atención Primaria de Salud (APS) constituye la función central y el núcleo principal de un Sistema Nacional de Salud, con gran influencia sobre el desarrollo social y económico global de la comunidad. Su papel es primordial, puesto que representa el primer nivel de contacto con el individuo, la familia y la sociedad. Desde la conferencia de Alma Ata (URSS, 1978), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), definieron a la APS como “la asistencia sanitaria esencial, basada en métodos y tecnologías prácticos, científicamente fundados y socialmente aceptables, puesta al alcance de todos los individuos y familias de la comunidad, mediante su plena participación y a un costo que la comunidad y el país puedan soportar en todas y cada una de las etapas de su desarrollo, con un espíritu de autorresponsabilidad y autodeterminación”.<sup>1</sup>

El núcleo conceptual y operacional de la APS se centra en la obtención del impacto deseado en la salud de las poblaciones, con un máximo de eficiencia social y de productividad a partir de los recursos asignados al sector. Bajo este contexto se promueven diversos componentes estratégicos, entre ellos, el desarrollo y aplicación de los diferentes tipos de investigación en salud: la biomédica, la clínica, y la investigación en Salud Pública.<sup>2</sup> En particular, la investigación clínica se ha enfocado hacia el estudio de la eficacia de medidas preventivas, diagnósticas y terapéuticas que se aplican al individuo; sin embargo, desde la Salud Pública, donde el interés está centrado en la comunidad, se requiere también de la búsqueda de alternativas terapéuticas de bajo costo, alta efectividad y socialmente aceptadas. Una fuente de ellas la constituyen las tradiciones curativas de cada pueblo, es decir, su propia medicina, adquirida a través de la experiencia de los siglos, con trascendencia y permanencia hasta nuestros días. Son la expresión de la medicina tradicional, la cual ha sido definida adecuadamente por el maestro Aguirre Beltrán como:

“El conjunto de prácticas, saberes e ideología curativo-preventivas-enfermantes que prevalecen en los diferentes conjuntos sociales de una sociedad determinada. (Medicina y Magia, 1958)”

A estos conocimientos se les ha denominado medicina alternativa sin considerar que, lo alternativo es relativo a quien lo contempla.

Fue con la incorporación de la China Continental a la OMS y a partir de la declaración de la Conferencia Internacional sobre Atención Primaria de la Salud en Alma Ata, que en los sistemas de salud de los países representados resurgió el interés por conocer los sistemas médicos alternos, particularmente la herbolaria, que entre otros usos, representa un gran potencial para la dermatología por la accesibilidad del órgano piel, además de lo mucho de tradicional que conserva la terapia tópica magistral.<sup>3</sup>

Por todo esto y ante el estado actual de la economía del país, el abordaje de los problemas de salud requiere que se retomen y se evalúen los fundamentos científicos de los conocimientos de la cultura popular para que con un uso bien fundamentado se pueda dar respuesta a las múltiples necesidades de los diversos grupos sociales. Uno de esos problemas es la alta prevalencia de las dermatofitosis en la población, padecimientos para los que existen medicamentos de probada efectividad que sin embargo, por su costo, quedan fuera del alcance de gran parte de los pacientes que se encuentran dentro del nivel socioeconómico bajo y sin acceso a la seguridad social, por lo que resulta importante la identificación de recursos de la herbolaria que permitan la obtención de otras formas terapéuticas que den respuesta a los planteamientos de la APS y a la vez se enmarquen científicamente dentro del modelo de investigación de Salud Pública.

Dentro de este contexto, el presente estudio abordará la investigación de actividad antifúngica *in vitro* e *in vivo* de tres plantas de uso medicinal, capaces de constituir una alternativa terapéutica en las dermatofitosis, pues es un hecho que en el ámbito mundial se continúa en la búsqueda del antimicótico ideal, de amplio espectro, sin efectos colaterales, de fácil administración y bajo costo.

## 1. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La difícil situación económica que priva en los países en subdesarrollo, favorece el uso de terapéuticas alternativas para resolver múltiples padecimientos de la salud. Una de las más usadas es la herbolaria, con profundas raíces en el pueblo de México, en donde la investigación científica contribuye a su rescate y preservación, fomentando además el respeto a las prácticas tradicionales de atención y cuidados para la salud.

En Salud Pública, un problema importante es la alta prevalencia de las dermatofitosis en la población mexicana. Dentro del Instituto Mexicano del Seguro Social ha ocupado el cuarto lugar de todos los padecimientos transmisibles diagnosticados; en el Estado de San Luis Potosí, en la población abierta, la incidencia general es de 559 por 100 000 habitantes y se considera que a escala nacional algunas de sus variedades clínicas como la tiña de los pies alcanzan de un 30 a 45% de frecuencia. En ese mismo ámbito, ocupa un quinto lugar en la consulta dermatológica. Desde el punto de vista económico, en casos extremos llegan a ser incapacitantes, lo que se traduce en pérdidas importantes de días trabajo años en determinados sectores productivos. Asimismo, como suelen ser padecimientos visibles y pruriginosos originan vergüenza en el ámbito social.

Bajo el impulso dado por la Organización Mundial de la Salud con su propuesta de retomar la medicina herbolaria tradicional (Alma Ata, 1978), en México y en todo el mundo ha resurgido el interés por recuperar estos conocimientos. En este sentido, diversos esfuerzos se han encaminado a la investigación en la terapéutica antifúngica a partir de substratos de origen vegetal, donde se han identificado especies que poseen actividad contra hongos en cerca de 50 familias de plantas, destacan algunas de ellas como: *Asteraceae*, *Fabaceae* y *Brassicaceae*. Es por esto, que resulta de interés la búsqueda de recursos vegetales propios de la región que puedan aportar nuevos productos que cumplan con el ideal, un antimicótico, de amplio espectro, sin efectos colaterales, de fácil administración, bajo costo y por lo tanto, aplicable a las dermatofitosis de tratamiento tópico.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 LA HERBOLARIA

Antaño, las plantas medicinales eran el único remedio conocido para alcanzar la salud. Los conocimientos sobre los efectos de las plantas fueron incrementándose de generación en generación, primero fueron los médicos botánicos de la antigüedad y posteriormente, en la edad media, los monjes, los que plasmaron por escrito su experiencia para que se transmitiera a través de las generaciones. Muchos de esos conocimientos siguen siendo válidos hasta nuestros días. La fitoterapia se ha convertido en una ciencia en la que se determinan las sustancias activas de las plantas, se investigan sus efectos y se establece la explicación científica de los mismos. En la actualidad no cabe imaginarse la medicina sin el uso de las plantas, hasta el punto de que los medicamentos más eficaces contienen a menudo sustancias activas vegetales. El éxito de la fitoterapia depende del uso específico de las plantas apropiadas y de la exactitud de los límites de su empleo.<sup>4</sup>

#### 2.1.1 La herbolaria en México a través de la historia

En el pueblo mexicano, las plantas medicinales aparecen como uno de los recursos más sobresalientes del arsenal del terapeuta tradicional y ocupan un lugar preponderante en el corpus etnomédico. El conocimiento que acerca de ello se tiene va más allá de una mera tradición, puesto que representa un mosaico de incesantes adecuaciones y constante adopción y generación de nuevos conceptos,<sup>5</sup> no obstante, resulta imposible dejar de lado la profunda raíz histórica de los mismos.

La salud entre los nahuas, los mayas y otras culturas del México antiguo se entendía a partir de un equilibrio entre las fuerzas corporales, naturales y sobrenaturales. Las plantas medicinales desempeñaron un importante papel en el mantenimiento de este equilibrio y



proporcionaron elementos para las prácticas preventivas y curativas que se aplicaron tanto a individuos como a la sociedad. A pesar de que la medicina tradicional no siempre comparte los principios de la medicina institucional moderna, su sustrato empírico científico en muchos de los casos es racional. Desde el punto de vista nahua sobre la enfermedad, se realizó una evaluación empírica de 118 plantas medicinales aztecas identificadas en documentos coloniales tempranos, lo cual reveló que casi un 85% de los remedios vegetales contienen sustancias bioquímicas que producirían el efecto curativo deseado. Sin embargo, el hallazgo de evidencias directas de plantas medicinales, es decir, de las partes de la planta preparada para utilizarse, recuperadas de un contexto curativo es excepcional en el registro arqueológico, esto se debe, entre otras cosas a la pobre preservación de las mismas, por lo que la mayoría de los estudios que intentan interpretar las plantas medicinales prehispánicas se basan en documentos históricos.<sup>6</sup>

Los libros antiguos que existen sobre el tema provienen todos del siglo XVI y son resultado del trabajo de unos cuantos españoles que con diversos propósitos, intuyeron la necesidad de registrar el saber de los habitantes de una región del mundo que se transformaba en sus costumbres a gran velocidad, como resultado de la colonización. La cultura que agonizaba tenía construida una interpretación propia sobre la vida y la salud; los médicos indígenas habían sistematizado el conocimiento sobre las propiedades de las plantas y su aplicación en el tratamiento de las enfermedades de acuerdo con esa conceptualización médica. No obstante, esos aspectos no fueron considerados al rescatar la información sobre el uso de las plantas, ya que los recopiladores no reconocieron en los informantes indígenas las mismas condiciones intelectuales que los médicos europeos. Una de las consecuencias de esta actitud fue que esos escritos, llamados hoy “fuentes históricas” de la herbolaria prehispánica vieran la luz pública y fueran estudiados hasta el siglo XX, pues en su momento, no fueron concebidas por los autores para preservar, conocer y utilizar la medicina herbolaria indígena<sup>7</sup>.

El primero de los textos que registra ese gran acervo de información y que además refleja el mestizaje médico que se produjo durante el siglo XVI es el Códice de la Cruz-Badiano

que fuera titulado originariamente en el siglo XVI, *Libellus Medicinalibus Indorum Herbis*, lo que significa *Librillo de las Hierbas Medicinales de los Indios*; es el primer libro de medicina escrito y publicado en el Continente Americano, también considerado como el último herbario medieval del mundo<sup>8</sup>. Otro texto de gran interés es el derivado de la obra de Fray Bernardino de Sahagún, *la Historia General de las cosas de la nueva España*, en cuyos libros X y XI de la versión final aparecen respectivamente importantes capítulos sobre las enfermedades y su tratamiento y acerca de las plantas medicinales y el uso que se le daba a cada una de ellas. Imposible dejar de citar el monumental trabajo de Francisco Hernández, con su obra: *Historia natural de Nueva España*, en la que recopiló información y estudió cerca de 2000 plantas medicinales que eran bien conocidas por médicos y curanderos indígenas.<sup>9</sup>

### 2.1.2 Investigación científica de la herbolaria en México

La investigación científica sobre plantas medicinales ha tenido una amplia trayectoria a lo largo de la historia de México. Sin embargo, las investigaciones químicas y farmacológicas han sido relativamente escasas, lo que ha impedido la incorporación de plantas como medicamentos en la medicina moderna. Fue hasta el siglo XIX, con la creación de la Sociedad Mexicana de Historia Natural que se realizaron estudios que dieron como resultado una compilación sobre las propiedades farmacológicas de las plantas más importantes y se escribieron trabajos sobre el tema. Otro gran impulso en este campo se dio en 1888, cuando se creó por ordenes del presidente Porfirio Díaz el Instituto Médico Nacional, que tuvo como objetivo llevar a cabo el estudio de la flora medicinal mexicana para su incorporación a la terapéutica nacional y que desafortunadamente fue clausurado en el año de 1915.

Fue hasta la década de los setentas del siglo XX que se retomó la organización multidisciplinaria de la investigación de la flora medicinal en México y en todo el mundo,

bajo el impulso dado por la Organización Mundial de la Salud, con su plan de acción sanitaria de alcance mundial bajo el lema de “Salud para todos en el año 2000”. La propuesta de la OMS fue utilizar la medicina herbolaria tradicional con el fin de generar recursos baratos y culturalmente apropiados para la población, a fin de elevar la condición médico-sanitaria de los países más pobres, en donde se tomó como ejemplo a la República Popular China, país entonces habitado por 800 millones de personas, que había resuelto sus problemas básicos de salud mediante el uso de los procedimientos curativos de la medicina occidental y los de su propia medicina tradicional.

En México, el entonces presidente Luis Echeverría fundó, en 1975, el Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales (Imeplan), conformado por especialistas que tuvieron como objetivo llevar a cabo el estudio científico de la medicina tradicional indígena, y propiciar el aprovechamiento de los recursos naturales, sobre todo de las plantas, para la producción de fármacos naturales, como una estrategia para contar con una industria farmacéutica estatal que desarrollara medicamentos nacionales a partir de plantas comúnmente conocidas por la población. Con la creación del Imeplan se reactivó la investigación sobre las plantas medicinales en México y se logró difundir la nueva estrategia multidisciplinaria que permitiría el estudio moderno de la flora curativa. El instituto inició la formación de un herbario medicinal, actualmente conocido como Herbario Medicinal del IMSS, que está ubicado en el Centro Médico Nacional Siglo XXI. Su acervo abarca más de 120 000 especímenes, y en él se establecieron las bases para la investigación farmacológica y química de las plantas útiles, con una metodología que daría paso a la creación de fitofármacos, es decir, de productos elaborados a partir de plantas.

Para el año de 1980 el Imeplan pasó a formar parte del Sistema de Investigación Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social y dio origen a la unidad de Investigación en Medicina Tradicional y Herbolaria del IMSS (1981-1985), que posteriormente se convertiría en el Centro de Investigación en Plantas Medicinales del mismo (1985-1999).

En la actualidad, el Instituto Mexicano del Seguro Social cuenta con seis grupos de trabajo bien consolidados para realizar la investigación científica de las plantas medicinales, en los aspectos etnobotánicos, de farmacología experimental, de farmacología clínica y recientemente de biotecnología.<sup>10</sup> Dentro de sus actividades, se han realizado numerosos trabajos sobre el tema de la herbolaria, entre otros, el de difundir el conocimiento y las experiencias de los terapeutas tradicionales en México con los equipos IMSS- COPLAMAR. De igual manera se llevó a cabo en 1987 una recopilación de información de la medicina tradicional por medio de la aplicación de una encuesta con muestreo aleatorio, que demostró que tan solo en el estado de Sonora se usaban 102 plantas medicinales. También se encontró que 78% de las plantas medicinales se emplean para la atención de cuadros de patologías respiratoria, digestivas agudas y en problemas dérmicos, lo cual coincide con los motivos de consulta más frecuentes en las Unidades de Medicina Familiar (UMF) de la institución. Así mismo, sus resultados demostraron el conocimiento y aceptación de la herbolaria por parte en un 85% del personal médico, por su efectividad, por ser tratamientos alternativos, y por ser de uso popular. En cuanto a los usuarios, el 78% adujeron la efectividad de la herbolaria y confiaban en la misma por la popularidad de su uso.<sup>11</sup>

### 2.1.3 Investigaciones recientes en México de plantas medicinales

Indudablemente que dentro de la herbolaria la riqueza que México puede aportar es enorme, se calcula que es uno de los cinco países con mayor diversidad a escala mundial con más de 30 000 especies, de las cuales, 3352 tienen un uso medicinal registrado en inventarios taxonómicos registrados (después de China con 5000 plantas medicinales). Al mismo tiempo se calcula que más del 99% son plantas silvestres y autóctonas, por lo que en cada ecosistema (bosques, selvas, desiertos etc.) los pueblos ahí asentados resuelven con las plantas locales sus necesidades en salud, a pesar de que sólo se comercializa un 10% de las plantas registradas<sup>12</sup>.

Si bien en forma un tanto limitada, diversas instituciones se han interesado en promover la investigación de las plantas medicinales para demostrar los fundamentos científicos de su efectividad y en buscar otras alternativas de aplicación. Diversos estudios sobre el tema se pueden encontrar en la literatura, entre ellos, se ha evaluado la actividad biológica de la *Jacaranda mimosaeifolia* para el tratamiento de la hipertensión, amibiasis, y úlceras, en donde se encontró entre otras cosas, que su extracto etanólico induce hipotermia e hipotensión.<sup>13</sup> La actividad antitumoral de los extractos etanólicos de la corteza de *Amphypterygium adstringens*, que disminuyen el crecimiento de hepatoma AS-30D inducido en ratas,<sup>14</sup> la inhibición no específica inducida por el ácido cauradienoico aislado de Zoapatle (*Montanoa tomentosa*) en la contracción de útero de rata tratados (*in vitro*) con acetilcolina, oxitocina y serotonina.<sup>15</sup> La evaluación de la potente actividad antimicrobiana de *Helianthemum glomeratum* contra *Salmonella*, *Shigella* y *Vibrion cholerae*,<sup>16</sup> La actividad sedativa de la fracción no polar de las hojas de *Psidium guayaba*,<sup>17</sup> la actividad citotóxica y antimicrobiana de terpenoides de diferentes especies de la familia *Asteracea*, en el que 12 especies mostraron actividad contra varios microorganismos, entre ellos: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*,<sup>18</sup> El efecto anticonvulsivo de la infusión de *Iponema stans* demostrado en ratas.<sup>19</sup>

#### 2.1.4 La herbolaria y su potencial antifúngico

En el ámbito mundial se ha estimulado la investigación en la terapéutica antifúngica, encaminada a encontrar tratamientos alternativos con buena acción a partir de diversos substratos naturales, principalmente de origen vegetal, pues se ha observado que, algunos de ellos poseen mecanismos entre los que se encuentran enzimas constitutivas o inducibles que inhiben el crecimiento de hongos, tales como las quitinasas y glucanasas, estas enzimas tienen el poder de romper la estructura de la pared fúngica, de ahí el interés reciente por estudiar la posibilidad de que enzimas vegetales, solas o en combinación puedan resultar efectivas en la terapéutica antifúngica.<sup>20</sup>

Además de mecanismos enzimáticos, desde principios del siglo XX, el botánico francés Noel Bernard descubrió que las plantas pueden producir sustancias antifúngicas como respuesta específica al ataque por hongos, estos compuestos se encuentran en los tejidos infectados y son inhibidores difusibles del crecimiento fúngico. Müller y Börguer (1940) observaron el mismo fenómeno y denominaron a esas sustancias inducidas fitoalexinas a las definieron como “compuestos químicos producidos como resultado de la invasión por parásitos de células vegetales vivas”. Después de observar que su síntesis podía ser inducida por otros factores ambientales como radiación ultravioleta o contacto con metales pesados, Ingham (1973) redefinió a las fitoalexinas como “antibióticos formados en las plantas a través de una vía metabólica inducida como respuesta química biológica a factores del medio ambiente” a estos últimos los denominó “componentes de estrés”. Años después (1980) se propuso una definición más pragmática del concepto denominándolos “productos metabólicos de las plantas superiores que en tejidos sanos están ausentes o en cantidades insignificantes y que se acumulan en proporciones significativas como respuesta a la invasión fúngica o bacteriana”. En la actualidad, el uso del término fitoalexina se limita a metabolitos secundarios de bajo peso molecular y no se aplica a proteínas o péptidos antifúngicos producidos por las plantas<sup>21</sup>. Lo que resulta indudable, es que tanto las fitoalexinas como las otras sustancias forman parte de los mecanismos de defensa de las plantas y representan un potencial como antimicóticos naturales

Información reciente describe alrededor de 400 plantas con propiedades contra diferentes hongos. En cerca de 50 familias de plantas se han encontrado especies con actividad antifúngica, se destacan algunas de ellas como las *Asteraceae*, *Fabaceae* y *Brassicaceae*. Maruzella y Balter estudiaron 112 aceites esenciales (la mayor parte de origen vegetal), que probaron contra 12 hongos fitopatógenos, 100 tuvieron acción contra por lo menos 2 hongos.<sup>22</sup> Así mismo, Rai y Acharya estudiaron la actividad de 31 especies de plantas de la familia *Asteraceae* contra *Fusarium oxisporum* y *Trichophyton mentagrophytes* encontrando actividad en 29 de ellas.<sup>23</sup>

Algunos compuestos químicos o metabolitos secundarios han sido identificados como responsables de esta actividad, por ejemplo, se ha descrito la presencia de flavonoides en *Thymus herba varona*,<sup>24</sup> de ellos, el xantomicrol, que también se ha aislado de *Ononis natrix*, posee actividad antimicrobiana contra *Aspergillus parasiticus*, *Candida tropicalis* y *Fusarium solani*.<sup>25</sup> De las hojas de *Styrax ferrugineus* (*Stiracaceae*) se han aislado norlignanos con propiedades antimicrobianas contra *Candida albicans*, *Cladosporium cladosporioides* y *Staphylococcus aureus*.<sup>26</sup> Un derivado acetilado del floroglucinol aislado de *Helichrysum caespitium* (*Asteraceae*) mostró propiedades antimicrobianas significativas contra *Aspergillus flavus*, *A. niger* y otros hongos fitopatógenos, así como ante las bacterias *Staphylococcus aureus* y cepas del género *Bacillus*.<sup>27</sup> Otros estudios no han logrado establecer la identidad de los compuestos de origen vegetal con acción antifúngica y sin embargo la han demostrado, como es el caso del aceite esencial de *Helietta parvifolia* que ejerce una inhibición del crecimiento de hongos en suelo de matorral sobre: *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus* y *Aspergillus parasiticus*.<sup>28</sup>

Desde el punto de vista terapéutico, una línea promisoriosa se ha centrado en el uso del ajo (*Allium sativa*) y algunos de sus extractos como agentes antimicrobianos.<sup>29</sup> Específicamente se ha evaluado la actividad *in vitro* e *in vivo* de la alicina (principio activo) y su uso en el tratamiento de las tiñas de cuerpo e inguinal.<sup>30</sup> Con el mismo objetivo, se valoró *in vitro* la actividad de *Beschorneria yuccoides* contra tres dermatofitos,<sup>31</sup> la acción *in vitro* de los metabolitos de *Larrea tridentata*<sup>32</sup> y la obtención de compuestos antifúngicos para el tratamiento del pie de atleta a partir de raíces de *Solanum chysotrichum*.<sup>33</sup>

## 2.2 DERMATOFITOSIS

Las dermatofitosis o tiñas son un conjunto de micosis superficiales que afectan la piel y sus anexos (uñas y pelos), causadas por un grupo de hongos parásitos de la queratina denominados dermatofitos que excepcionalmente invaden tejidos profundos.<sup>34</sup>

### 2.2.1 Importancia de las dermatofitosis en Salud Pública

Las dermatofitosis (clave B 35.9 [CIE-10] de la Organización Panamericana de la Salud OPS/OMS<sup>35</sup>) están consideradas las más frecuentes de las enfermedades fúngicas. En México, de acuerdo a las estadísticas del Seguro Social, las dermatofitosis ocuparon el cuarto lugar entre todos los diagnósticos de padecimientos transmisibles, con un total de 245 449 casos de tiñas notificadas en 1986 (índice de 785 por 100 000 D.H.), el grupo más afectado fue el de niños de 0-14 años con una frecuencia del 48.8%.<sup>36</sup> Recientemente, en el año 2000, durante la revisión del primer consenso de prevención, diagnóstico y tratamiento de micosis superficiales se consideró que estos padecimientos se encuentran dentro de las diez dermatosis más frecuentes, que constituyen 70-80% de todas las micosis y que tiene una frecuencia de 5% de la consulta dermatológica,<sup>37</sup> es por esto, que las tiñas en nuestro país son consideradas un problema sanitario importante, porque si bien, no ponen en peligro la vida del paciente, suelen causar molestias que pueden en casos extremos llegar a ser incapacitantes, lo que se traduce en un impacto económico, particularmente en los grupos más susceptibles por las actividades que realizan, entre otros, personal del ejército y mineros, en donde suele haber pérdidas de días de trabajo o producción ante la imposibilidad de usar zapatos adecuadamente. El Dr. Montero-Gei, en su Atlas de Dermatomicosis (1999), cita a Genties y Evans quienes reportan que en un año de estudio en Inglaterra, 30-35% de mineros del carbón presentaron infecciones por dermatofitos en los pies, que originaron pérdidas de 110 000 días de trabajo. Desde otro punto de vista algunas de estas infecciones son muy visibles y pruriginosas por lo que los pacientes experimentan incomodidad y vergüenza en el ámbito social.<sup>38</sup>

### 2.2.2 Aspectos epidemiológicos más importantes de las dermatofitosis

Los hongos causantes de este padecimiento pertenecen a tres géneros: *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*. Son variadas las especies según las diversas regiones



del mundo y del país, en donde las más importantes son: *T. tonsurans*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. canis* y *E. floccosum*. De acuerdo a su hábitat natural se han clasificado en antropofílicos cuando parasitan preferentemente al ser humano (*T. tonsurans*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* y *E. floccosum*), zoofílicos si viven en animales y afectan ocasionalmente al humano (*M. canis* y *T. mentagrophytes* var. *quinckeanaum*) y geofílicos si su hábitat es la tierra (*M. gypseum*, especie poco frecuente en México).<sup>39</sup>

La fuente de infección depende del hábitat del dermatofito, por lo tanto, puede ser tierra, animales o por transmisión directa de hombre a hombre. Los fomites como peines, toallas, calzado, sábanas, almohadas, etc., también pueden actuar como factores de diseminación.<sup>40</sup>

### 2.2.3 Cuadros clínicos de las dermatofitosis y su frecuencia

En el humano las tiñas se clasifican clínicamente según su localización anatómica, así se habla de tiña de la cabeza o *tinea capitis*, tiña del cuerpo o *tinea corporis* (si afecta piel lampiña), tiña de la ingle o *tinea cruris*, tiña de los pies o *tinea pedis*, tiña de las manos o *tinea manus* y tiña de las uñas o *tinea unguium*.<sup>41</sup> La tiña de los pies o pie de atleta puede adoptar tres variedades clínicas: intertriginosa, vesiculosa e hiperqueratósica.<sup>42</sup> La de la cabeza se clasifica bajo diversos criterios como húmeda, inflamatoria, tricofítica, microspórica y fávica;<sup>43</sup> mientras que la tiña del cuerpo presenta la microspórica y la tricofítica.<sup>44</sup> Estas micosis se pueden presentar a todas las edades y en ambos sexos, sin embargo, en algunas entidades hay preferencias específicas, por ejemplo, la tiña de la cabeza es casi exclusiva de niños (en la pubertad tiende a desaparecer), la tiña de los pies, la ingle y las uñas son comunes en los adultos y rara vez se presentan en los niños.<sup>45</sup>

Respecto a la etiología, en México predomina *M. canis* en la tiña de la cabeza, a excepción de los estados del norte en donde continúa prevaleciendo la variedad causada

por *T. tonsurans*. La tiña de cuerpo también es ocasionada con mayor frecuencia por *M. canis* en los niños y por *T. rubrum* en los adultos.<sup>46</sup> En la tiña de pies, uñas e ingie predomina *T. rubrum*.<sup>47</sup> Es importante señalar que de los dermatofitos zoofilicos, en nuestro país, es especialmente importante *M. canis*, hongo que afecta primariamente a perros y gatos, mascotas que por su estrecha convivencia con el hombre se convierten en transmisores frecuentes de la enfermedad y ocasionan generalmente microepidemias. En estos animales también suele encontrarse *M. gypseum* y *T. mentagrophytes*.<sup>48</sup>

En la población del estado de San Luis Potosí, en 1996, las dermatofitosis ocuparon el 5° lugar de consulta en población abierta con una incidencia general de 559 por 100 000 habitantes.<sup>49</sup> En cuanto a frecuencia, en el ámbito nacional, el cuadro clínico más común es el de la tiña de los pies, que afecta al 30 al 45% de los habitantes, mientras que la del cuerpo se presenta en un 15% y la de ingie en un 4%.<sup>50</sup> Respecto a las zonas rurales, en una región de la zona Huasteca de nuestro Estado, con población indígena predominante, se encontró que de 62 pacientes que acudieron a la consulta especializada de dermatología, el 19% presentaban infecciones micóticas superficiales o subcutáneas, con un predominio del 75% de tiñas, principalmente de pies (50%), cuerpo (22%) e ingie (14%).<sup>51</sup>

Existen actividades que favorecen las dermatofitosis, por ejemplo, la tiña de los pies predomina en militares, deportistas y nadadores por la humedad en que mantienen los pies. La tiña de la ingie es más común en individuos que regularmente están sentados como: taxistas, choferes y oficinistas. Otros factores predisponentes son: clima húmedo, malos hábitos higiénicos, hacinamiento, uso de zapato cerrado y ropa sintética. Las enfermedades crónicas o inmunodepresoras y el uso de corticosteroides representan un factor en la exacerbación de las mismas.<sup>52</sup>

#### 2.2.4 Tratamiento de las dermatofitosis y tendencias actuales

Las tiña de los pies, manos, cuerpo y de la ingle por lo general requieren tratamiento tópico, los tratamientos sistémicos suelen reservarse para formas diseminadas, resistentes a tratamiento local, recidivantes e inflamatorias, así como para pacientes inmunodeprimidos. Los medicamentos más comunes utilizan en su fórmula moléculas sintéticas como los derivados imidazólicos,<sup>53</sup> entre ellos miconazol, ketoconazol, econazol, oxiconazol y clotrimazol, los derivados carbanilados tolnaftato y tolclolato<sup>54</sup> y de las alilaminas, la terbinafina.<sup>55</sup> El advenimiento de estos fármacos ha disminuido relativamente la frecuencia de las micosis en general, sin embargo, con mayor frecuencia se observa resistencia a estas terapias y diversos efectos colaterales, a los que se añade que la mayoría de los productos tienen un elevado precio en el mercado y que, los individuos de bajos recursos económicos son los que sufren más estos problemas de salud.<sup>56</sup>

A pesar de lo anterior, las tendencias actuales de la industria farmacéutica se han encaminado preferentemente hacia esquemas de tratamiento con antifúngicos sistémicos, administrados en esquemas de pulsos. Estos tratamientos tienen la ventaja de que son muy fáciles de administrar, por lo general son efectivos y facilitan la adherencia terapéutica, sin embargo, su costo suele ser muy alto y no están al alcance de gran parte de los pacientes. Los más empleados con este fin son el itraconazol<sup>57</sup> y el fluconazol.<sup>58</sup>

#### 2.2.5 Dermatofitosis en especies animales inferiores

La prevalencia de la dermatofitosis en las especies animales inferiores es variable, se presentan principalmente en gatos y perros. En Dinamarca se calculó para los perros en un 12.4% (Breuer-Srosberg, 1993), mientras que Casillas de Collado encontró 27 casos

de dermatofitosis en un total de 141 de estos animales que padecían dermatosis (19.1%)<sup>59</sup> y Colín-Granjero determinó la prevalencia del padecimiento en perros de la ciudad de Cuernavaca, Morelos, México en un 3.5%.<sup>60</sup>

La exposición de los animales a los dermatofitos suele determinar el establecimiento de los agentes. El pelo es invadido en perros y gatos en forma ectótrix y endótrix y los artroconidios que se desarrollan constituyen la principal fuente de infección para el hombre. Generalmente, las manifestaciones clínicas en estas especies animales se presentan como lesiones circulares con pseudoalopecia en diferentes grados y con tendencia a sanar en el centro, acompañadas de finas pápulas foliculares, descamación del área central y costras en la periferia; puede haber formación de pústulas. En cuanto a signos y síntomas, estos son altamente variables, el grado de inflamación depende de la interacción hospedero-parásito. El prurito generalmente es mínimo o está ausente.

El diagnóstico se lleva a cabo mediante la demostración de la presencia de escamas y pelos infectados, clarificados con una solución de hidróxido de potasio del 10 al 20%. El aislamiento del hongo se lleva a cabo mediante el cultivo en medio Micosel o Micobiotic y su identificación se realiza por las características micromorfológicas de las cepas. Un examen que resulta muy orientador es el examen de las lesiones bajo la luz de la lámpara de Wood, las causadas por *M. canis* fluorescen de color amarillo-verdoso.

En cuanto al tratamiento, en lesiones limitadas se recomienda cortar el pelo 6 cm alrededor de la lesión y aplicar tratamiento tópico dos veces al día a base de derivados imidazólicos (crema o loción), soluciones de yodo-povidona al 2%, clorhexidina al 1% o solución de hipoclorito de sodio al 0.5%. En tiñas muy extensas, recidivantes o en animales inmunodeprimidos se recomienda el tratamiento sistémico con griseofulvina, ketoconazol o itraconazol.<sup>61</sup>

### 2.3. ESPECIES VEGETALES EN ESTUDIO

A continuación se describen las características etnobotánicas, los estudios químicos y los usos alternativos de las tres especies vegetales que se incluyeron en el estudio *Larrea tridentata* (DC.) Cov. *Chrysactinia mexicana* A. Gray y *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle (Figura 1).

#### 2.3.1 *Larrea tridentata* (DC.) Cov.

El género *Larrea* pertenece a la familia *Zigophyllaceae*, de las que existen cinco especies: *cuneifolia*, *divaricata*, *nitida*, *ameghionoi* y *tridentata*, las cuatro primeras se encuentran en el desierto de Argentina, Chile, Bolivia y Perú. La última, es decir la especie *tridentata* es característica del norte de América. En Argentina, debido a la arquitectura que presenta se le ha llamado “jarilla”; en Estados Unidos, basándose en la capacidad que tiene para sintetizar en sus hojas sustancias químicas se le denomina Creosota Bush y, por su abundancia en los desiertos de México se le conoce como Gobernadora. La *Larrea tridentata* (DC.) Cov. en nuestro país, ocupa aproximadamente el 25% de la superficie total y se encuentra en los estados de Baja California, Chihuahua, Durango, Sinaloa, Zacatecas, Tamaulipas, Coahuila y San Luis Potosí<sup>62</sup>

Se trata de un arbusto de 60 cm de altura, ramificado. Las hojas están divididas en hojuelas, que al tocarlas se sienten como cuero, y están cubiertas de vellos y resina. Las flores son amarillas y solitarias. Los frutos son unas cápsulas con vellos largos. Se presenta en climas muy secos y templados, entre los 10 y 2000 msnm. Está asociado a bosque tropical caducifolio, matorral xerófilo, bosque de encino y pino.

Dentro de sus componentes químicos, posee un aceite esencial en el que se han identificado los monoterpenos borneol y su acetato, alcanfor, camfeno, para-cimeno, alfa fenchona, limoneno, linalol, beta-ocimeno y alfa-pineno; los sesquiterpenos alfa agaro-

Fig. 1 Especies vegetales en estudio

a). *Larrea tridentata* (DC.) Cov.

b). *Chrysactinia mexicana* A. Gray

c). *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle

18



a



b



c

furano, alfa-bergamoteno, alfa-calaneno, copaeno, alfa-curcumeno, beta y gama eudesmol, farnesol, 2-rosaleno beta-santaleno; los componentes fenólicos acetofenona, benzaldehido y el flavonoide edulano.

En las hojas se han identificado los flavonoides 6-8-diglucósido de crisoeriol, 3-3'-7-8-éter-tetra-metilico de gossipetin, 3-7-dimetil herbacetín, 3-7-8-éter trimetilico de herbacetín y vecenín 2; y los lignanos ácido dihidro-norguaiarético, 3' demetoxi-6-demetil-isoguaiacín, 4-epilearreatricín y su derivado 3'-hidroxilado. Del tallo se han aislados los lignanos isoguaiacín, sus derivados 3'-demetoxi-6-demetilado y 6-demetilado, larreatricín, sus derivados 3', 3''-dimetoxilado, 3-4-deshidrogenado, y el 4-epicompuesto y larreatridenticin; los triterpenos 3-beta (3-dihidroxi-cinamoil)-eritrodilol; y el esteroil betasitosterol. La raíz contiene el compuesto quinoideo larrantín. De las hojas se ha aislado una resina que contiene la mayor cantidad hasta ahora encontrada del ácido nordihidroguayarético (NDGA), que es usado como antioxidante, también se han identificado flavonoides, aceites esenciales y alcaloides halogénicos<sup>63</sup>. En general, se conocen más de 100 productos naturales secundarios derivados de este producto, otros importantes son: ésteres, lignanos y triterpenos. El NDGA ha demostrado su actividad microbicida contra *Salmonella* sp., *Penicillium* sp. *M. pyogenes* y *S. cerevisiae*.<sup>64</sup>

Dentro de los usos terapéuticos tradicionales ha sido usada en muy diversos padecimientos, la aplicación más común es en aquellos que son de origen renal y urinario, entre ellos: cálculos renales o de vejiga, dolor de riñón, cistitis y "mal de orín". Con frecuencia se le emplea también para problemas ginecológicos como esterilidad, curar "entueritos", regularización del sangrado menstrual y para eliminar el dolor causado por el mismo. Entre otras aplicaciones se utiliza para reumas, anemia, catarro, diabetes, dolor de cabeza, tos, úlcera, uretritis, regularización de la presión sanguínea, infecciones de los pies y para lavar heridas y granos. Se menciona útil en dolores musculares y contra el paludismo. Su actividad antiséptica está bien demostrada. También se ha comprobado que los extractos acuosos y de éter de petróleo de esta planta presentan actividad antihelmíntica en pollos infectados con *Eimeria tanellay* y actividad antibiótica contra

bacterias y hongos patógenos. Extractos acuosos y metanólicos de la raíz han ejercido actividad citotóxica contra cultivos celulares humanos obtenidos de carcinoma -9KB y células leucémicas tipo P-388. El extracto etanólico obtenido de las ramas ha mostrado actividad antibiótica sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Streptococcus faecalis* y ausencia de actividad sobre *Escherichia coli* y *Candida albicans*. En cuanto a toxicidad, se ha reportado que su ingestión provoca el envenenamiento de los borregos cuando se consume durante años y que puede causar dermatitis alérgica por contacto.<sup>65</sup>

La fracción hexánica extraída de la planta ha presentado una excelente actividad *in vitro* contra hongos patógenos humanos, entre ellos: *T. rubrum*, *T. tonsurans* y *Cryptococcus neoformans*. Su actividad es menor contra *Fonsecaea pedrosoi*. En este extracto se identificaron tres flavonas y se valoró la acción de una de ellas; la 5, 4-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona que manifestó una actividad antimicótica limitada. De estos compuestos, Pinkas (1974), Masalmeh (1995) y Timmermann (1981) ya habían reportado actividad contra hongos fitopatógenos. Se identificó también una mezcla con buena acción antimicótica constituida por tres componentes principales, con una estructura química que sugiere alcoholes y cetonas de compuestos aromáticos.<sup>66</sup>

### 2.3.2 *Citrus arantiifolia* (Christ.) Swingle.<sup>67</sup>

Lima, lima chichona, lima de chichi, lima de ombligo, limón agrio, limón liso, son algunos de los nombres comunes con los que se conoce a *C. arantiifolia* (Christ.) Swingle, planta de la familia *Rutaceae*. Es un árbol pequeño de unos 4 m de altura, con ramificaciones irregulares y espinas fuertes y agudas. Las hojas son más anchas en la punta y en el centro que abajo, el soporte de la hoja es un poco alado. Sus flores son pequeñas, solitarias y blancas. Los frutos son pequeños, de 3 a 6 cm de largo y de color verde amarillento cuando están maduros. La pulpa es abundante y muy ácida y las semillas de color blanco y pequeñas.



Originaria de la India y sudeste asiático, principalmente habita en climas cálido y semicálido, además de semiseco y templado, desde nivel de mar hasta los 2600 msnm. Adaptada a diversos hábitat, es cultivada en huertos familiares, asociada con vegetación circundante de bosque tropical caducifolio y perennifolio, matorral xerófilo, pastizal, bosque mesófilo de montaña y bosque mixto de pino-encino.

En la medicina tradicional se recomienda con mucha frecuencia por sus propiedades curativas de los nervios, uso que es referido en el centro del país en estados como Hidalgo, Morelos, Puebla y Veracruz. Es empleado en Morelos y Oaxaca como emenagoga, anticonceptiva, para aborto, embarazo y dismenorrea. En los estados de Morelos y Guerrero para el reumatismo, cortadas, mordeduras de perro, picaduras de mosco y piquetes de alacrán.

A nivel de aparato digestivo es utilizada para trastornos tales como agruras, amibas, bilis, diarrea, disentería, dolor de estómago, empacho, problemas hepáticos, tifoidea y vómito. Entre los grupos mixe, zapoteco y totonaco se les emplea específicamente contra la disentería. Para problemas respiratorios se usa en catarros, dolor de garganta, gripe, infección de garganta y resfrío. Dentro de los padecimientos de origen micótico, las parteras suelen utilizar el limón mezclado con miel, aplicado en la cavidad oral de bebés que enferman de algodoncillo.

En los tratamientos se utilizan diferentes partes de la planta, se usan generalmente en infusión las ramas, la flor y la cáscara, sin embargo, la parte más empleada es el fruto, el cual es preparado y aplicado en gran diversidad de formas como lo es ingerir únicamente el jugo para las mordeduras de perro y los piquetes de mosquito o diariamente para que funcionen bien los riñones. En forma directa se emplea para combatir secreciones oculares, granos o salpullido, mezclado con miel se emplea para combatir la tos, con sábila para disminuir la hinchazón o roncha en casos de disipela, con agua y sal para la diarrea, etc. Otros padecimientos en los que esta planta es usada son la diabetes, hemorragia nasal, conjuntivitis, calenturas y en enfermedades culturales como “susto”, “mal de ojo”, y “mal de aire”.

En general, dentro de la composición química de las plantas de la familia *Rutaceae*, se ha detectado una gran cantidad de alcaloides, esencias, raunoheterósidos, cumarinas, terpenoides, y furanoquinolinas. Alcaloides de tipos amina, imidazol (núcleo químico de numerosos productos antifúngicos<sup>68</sup>) indol, isoquinoleina piridina, pirrolodina quinazolina y quinoleina, entre otros. Los frutos son ricos en ácido cítrico y otros ácidos orgánicos.<sup>69</sup> Particularmente de *C. aurantiifolia* (Christ.) Swingle, la información química que existe es resultado de los estudios realizados en el aceite esencial obtenido de la cáscara del fruto. Este aceite está constituido principalmente por monoterpenos, dos derivados del bornalol, camfeno, carveo, cimeno, cineol, citronelol, dimetil estireno, felandreno, geraniol, limoneno, neral, alfa y beta-pineno, pinocarbeol, iso-piperitenol, piperitona, sabineno, sabinol, terpineno, terpineol, terpinoleno, y verbenol. Además se han identificado los sesquiterpenos, bergamopteno, beta-bisaboleno, alfa-bisabolol, alfa-cadinol, beta-cariofileno, farnesal y farnesol; y las cumarinas, un derivado de la cumarina, la iso-imperatorina, limetina, oxi-hidrato de pencedanina, felopterina, iso-pimpinelinea y geranil-psoralen.

Respecto a su acción farmacológica la actividad antibiótica del extracto etanólico de sus ramas no mostró actividad sobre *Streptococcus fecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y el hongo *Candida albicans*;<sup>70</sup> sin embargo, su actividad fungicida *in vitro* contra del hongo oportunista *Aspergillus flavus* Link y su eficacia como factor de protección de granos en almacén ha sido bien demostrada.<sup>71</sup> Es necesario aclarar que la clasificación botánica de esta especie fue corregida en el presente trabajo de *C. limonia* Osbeck, a *C. aurantiifolia* (Christ.) Swingle.

### 2.3.3 *Chrysactinia mexicana* A. Gray

Entre otros nombres comunes, la *C. mexicana* A Gray es conocida en nuestro país como: Calanca, Damiana, Damianita, Falsa Damiana, Garañona, Hierba de San Nicolás, Lllelepaxtle, Yeyepaxtle, Mariola y Romerillo<sup>72</sup>. Es un subarbusto perenne hasta de 60

cm de altura, glabro, o casi glabro, muy aromático; las ramas lignificadas conservan las bases de las hojas caídas, hojas densamente imbricadas sobre las ramas, en su mayoría alternas, algo carnosas, lineares, de 5 a 15 mm de largo, verde oscuras; cabezuelas solitarias sobre pedúnculos hasta de 5 cm de largo, bracteado, involucre anchamente campanulado a subhemisférico de 4 a 6 mm de alto; sin cálculo; sus brácteas ( $\pm 12$ ) lineares-oblongas, agudas en el ápice, con una gran glándula oleífera en la parte superior, receptáculo convexo; flores liguladas ( $\pm 12$ ), amarillas, sus láminas oblongas de 6 a 10 mm de largo; flores del disco 20 a 30, sus corolas amarillas de 4 a 6 mm de largo; aquenios lineares de 3 a 4 mm de largo, estriados, negruscos, algo pubescentes; vilano más largo que el aquenio, sus cerdas de color blanquecino-café. Plantas escasas, de distribución esporádica en el valle de México, Atizapán, Huizquilucan, Villa Alvaro Obregón, Texcoco, Ixtapaluca. Altitud 2250-2500 msnm. Principalmente en terrenos de suelo erosionado. Conocida desde Nuevo México y Texas hasta Veracruz y Oaxaca. Fuera del valle está mayormente ligada a sustrato de roca caliza<sup>73</sup>.

Pertenece a la familia *Asteraceae* que es la más basta del reino vegetal, ahí se incluyen a las plantas angiospermas, que se encuentran prácticamente en toda la superficie de la tierra y son especialmente abundantes en las regiones secas. En las zonas áridas del estado de San Luis Potosí se encuentran como uno de los principales componentes de su flora en los municipios de Charcas, Guadalcázar, Moctezuma, Soledad y Villa Juárez, en altitudes que varían entre 1200 a 2000 msnm.<sup>74</sup>

De manera particular, la *C. mexicana* A. Gray se ha utilizado como afrodisíaco, antiespasmódico, sudorífico, diurético, tónico, febrífugo, en casos de menstruación dolorosa, enfermedades venéreas y leucorrea.<sup>75</sup> Entre otros uso diversos fuera del área de la salud humana también se le atribuyen propiedades insecticidas en el control de plagas del maíz almacenado, especialmente sobre el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motsch.<sup>76</sup> Así mismo, su extracto etanólico actuó como fungicida en ensayos *in vitro* frente a la cepa de *Aspergillus flavus* Link. En cuanto a su composición química, el estudio fitoquímico preliminar de las hojas de la planta demostró la presencia de compuestos flavonoides, esteroides y terpenos.<sup>77</sup>

## 2.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA

### 2.4.1 Evaluación de la actividad antimicótica *in vitro*

En la determinación de las pruebas de sensibilidad *in vitro*, la bibliografía señala que los componentes de los medios de cultivo afectan la reproducibilidad de los resultados. Se ha empleado una amplia gama de medios de cultivo para este tipo de estudios, lo cual deja entrever la vulnerabilidad que tienen estas técnicas frente a esta variable y muchas veces la reproducibilidad depende del mecanismo de acción del antimicótico, tal es el caso de la 5-fluorocitocina que requiere medios pobres en bases nitrogenadas, mientras que para la anfotericina B y los imidazoles no son adecuados medios que contengan esteroides como colesterol y ergosterol. En general se considera que el medio de cultivo ideal debe reunir una serie de condiciones físicas determinadas, como ser sencillo, económico, de composición definida, permitir una distribución adecuada de los antifúngicos, tener un pH estable y soportar un desarrollo adecuado del inóculo, debiendo simular lo mejor posible el entorno que el antimicótico encontrará *in vivo*.

En cuanto al inóculo, se recomienda usar una concentración que va de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^6$  propágulos por ml. Respecto a la temperatura de incubación, en el caso de los hongos miceliales, la utilizada oscila en general entre los 25 y 30°C, mientras que para el tiempo de incubación, se especifica que este debe ser el mínimo necesario para que se manifieste el efecto de antimicótico y que es variable en función del tipo biomorfológico del hongo ensayado. Se citan periodos de 3 a 15 días para hongos dimórficos, miceliales y del género *Malassezia*. Las lecturas deben realizarse por comparación con un control del crecimiento que marca el momento de realizarlas. En cuanto al solvente que se use, debe ser inerte, no poseer propiedades antifúngicas por sí solo, y no potenciar o inactivar el principio activo.<sup>78</sup>

En el presente trabajo se retomará la técnica de difusión en pozo descrita en los trabajos ya citados, mediante los que se demostró la actividad antimicótica *in vitro* de la *Larrea tridentata* (DC.) Cov. contra hongos patógenos humanos, las de *Citrus limonia* Osbeck y *Chrysactinia mexicana* A. Gray en contra de cepas de *Aspergillus flavus* Link productoras de aflatoxinas. La técnica se fundamenta en la difusión de los extractos en un medio semisólido que previamente ha sido inoculado masivamente con una carga de propágulos fúngicos suficiente para garantizar un crecimiento homogéneo sobre la superficie del agar. Si el extracto genera halos de inhibición que pueden ser medidos se considera que posee actividad antifúngica.

#### 2.4.2 Evaluación de la actividad antimicótica *in vivo*

Respecto a los ensayos *in vivo*, los diseños experimentales están encaminados a la búsqueda de la eficacia de principios activos incorporados a un vehículo inerte. La forma de administración varía dependiendo de la forma de aplicación que requiera el padecimiento. En las dermatofitosis de tratamiento tópico se emplean directamente sobre las lesiones. La evaluación de la eficacia toma en cuenta dos criterios: la curación clínica valorada a través de la evolución de signos y síntomas, y la curación micológica, que se determina mediante la negativización de dos exámenes de laboratorio: el examen microscópico directo y el cultivo.<sup>79</sup> Los signos y síntomas a valorar dependen del cuadro clínico en estudio, generalmente en las tiñas de tratamiento tópico se incluyen eritema, descamación, formación de vesículas y fisuras, maceración, inflamación, prurito y ardor. La forma en que suele hacerse es estableciendo una escala que va desde ausencia de los mismos hasta manifestaciones severas. En cuanto a la forma de administración de los medicamentos, suele emplearse una a dos aplicaciones al día por periodos que van de tres a cuatro semanas, periodo suficiente para erradicar la infección en el humano.<sup>80, 81</sup>

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar terapéuticas alternativas para el tratamiento de las dermatofitosis a partir de tres plantas medicinales con demostrada actividad antifúngica: *Larrea tridentata* (DC.) Cov., *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle y *Chrysactinia mexicana* A. Gray.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1 Determinar la acción antimicótica *in vitro* de los extractos de *Larrea tridentata* (DC.) Cov., *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle y *Chrysactinia mexicana* A. Gray, plantas medicinales de la herbolaria mexicana en contra de las cepas de dermatofitos *Trichophyton. rubrum* y *Microsporum. canis*.

3.2.2 Determinar la Concentración Mínima Fungicida de los extractos vegetales que manifiesten mayor actividad.

3.2.3 Valorar *in vivo* la acción antimicótica de los extractos vegetales más activos, en un modelo animal, el conejo.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 DETERMINACIÓN DE LA ACCIÓN ANTIMICÓTICA *IN VITRO*

#### 4.1.1 Diseño del modelo experimental

Se llevó a cabo un estudio experimental prospectivo, transversal y comparativo, con base en un diseño completamente al azar y cinco repeticiones, frente a un control de actividad, en el cual se usó tolnaftato en solución a 1% y un control de desarrollo en el que se utilizaron los solventes etanol o hexano. Los modelos experimentales fueron cepas de *T. rubrum* y *M. canis* recientemente aisladas de casos clínicos.

#### 4.1.2 Hipótesis

Las plantas medicinales de uso tradicional en la herbolaria: *Larrea tridentata* (DC.) Cov, *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle y *Chrysactinia mexicana* A. Gray, por su actividad *in vitro* ofrecen la posibilidad de una alternativa terapéutica en las dermatofitosis de tratamiento tópico.

#### 4.1.3 Preparación de los extractos de las plantas

La recolección de las tres especies vegetales se realizó en el área urbana y en las zonas árida y semiárida del Estado de San Luis Potosí. En la Tabla 1 se resumen los datos del proceso de recolección. La clasificación taxonómica se llevó a cabo en el Instituto de Investigación de Zonas Desérticas (I.I.Z.D.) de la U.A.S.L.P. Se entregaron ejemplares para registro (actualmente en trámite) al Herbario Isidro Palacios de la misma institución.

Tabla 1 Características del proceso de recolección de las especies vegetales en estudio

Especie vegetal	Familia	Muestra en estudio	Época de recolección	Localización geográfica
<i>L. tridentata</i> (DC.) Cov.	<i>Zigophylaceae</i>	Hojas	Invierno	Carretera a Guadalucazar, a 1 Km del entronque con la carretera 57
<i>C. mexicana</i> A. Gray	<i>Asteraceae</i>	Hojas	Verano	Carretera a Guadalucazar, a 4 Km del entronque con la carretera 57
<i>Citrus aurantiifolia</i> (Chystm.) Swingle	<i>Rutaceae</i>	Fruto inmaduro	Verano	Ciudad de San Luis Potosi



Las plantas se sometieron a secado para eliminar la humedad, fijar los constituyentes y evitar el enmohecimiento y la acción enzimática bacteriana. El procedimiento se realizó a la sombra por un periodo de 15 a 25 días. De *L. tridentata* (DC.) Cov. y de *C. mexicana* A. Gray se utilizaron las hojas. El material vegetal se pulverizó en licuadora hasta alcanzar un tamaño de partícula capaz de atravesar una malla de 40 hilos/pulgada (diámetro 0.553 mm). Posteriormente, cada una de las muestras se sometió al procedimiento de extracción con hexano y etanol por percolación hasta agotamiento en columna de gravedad. Se concentraron los extractos en rotavapor a presión reducida y baja temperatura (32°C). Se ajustó la concentración final a 300 mg %.<sup>i</sup>

#### 4.1.4 Preparación del inóculo

Se eligieron para el estudio las cepas de dermatofitos *T. rubrum* y *M. canis* por ser las más representativas de las dermatofitosis que requieren tratamiento tópico. Las cepas fueron cultivadas en Agar Avena Jitomate para favorecer el proceso de conidiación. Se incubó a 28°C por un periodo de siete días, posteriormente se prepararon suspensiones estandarizadas de los propágulos fúngicos en agua destilada estéril a partir del micelio aéreo. La concentración fue determinada en una primera aproximación con la carta de Wickerham, (equivalente de dos cruces). Posteriormente se ajustó en contador de células a una concentración de  $1.5 \times 10^6$  ( $\pm 0.2$ ) propágulos por ml. Una vez estandarizada la suspensión se conservó a 4°C.

#### 4.1.5 Evaluación de la actividad antimicótica *in vitro*

Para la valoración *in vitro* de los extractos activos se utilizó el método de difusión en pozo. La prueba se realizó en caja de Petri con medio de cultivo Micobiotic con un grosor

---

<sup>i</sup> En general, en el trabajo las dosis y concentraciones de los extractos están referidas al peso de la planta seca.

de 4 mm. Se inocularon por espatulación  $1.5 \times 10^5$  propágulos fúngicos. Posteriormente, al centro del agar se perforaron pozos de 7 mm de diámetro, en ellos se colocaron los extractos en estudio, inicialmente se usó para todos una dosis de 100  $\mu$ l (equivalentes a 30 mg). Para los extractos hexánicos de *L. tridentata* (DC.) Cov. y *C. mexicana* A. Gray se estudiaron también las dosis de 150 y 200  $\mu$ l (45 y 60 mg) contra *T. rubrum* y 200 y 250  $\mu$ l ante *M. canis* (60 y 75 mg). De los extractos alcohólicos, solo para el de *L. tridentata* (DC.) Cov. se incluyó también la dosis de 200  $\mu$ l (60 mg). Las cajas se mantuvieron en refrigeración por media hora a 4°C para evitar la evaporación y favorecer la difusión; transcurrido ese tiempo se incubaron a 28°C por siete días. La actividad biológica fue valorada por el tamaño de los halos de inhibición de desarrollo medidos en centímetros. A los resultados se les practicó análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de rangos múltiples de Tukey ( $\alpha= 0.05$ ). Se utilizó el programa de Olivares Sáenz de la Universidad de Nuevo León (disponible en el laboratorio de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas de la U.A.S.L.P.).

#### 4.2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA.

Para esta fase se seleccionaron los extractos hexánicos de *L. tridentata* (DC.) Cov. y *C. mexicana* A. Gray, los más activos en el ensayo anterior. El estudio se realizó con base en un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Como control de desarrollo se utilizaron cultivos libres de extractos. Se valoró la posible interferencia del solvente con otros cultivos adicionados de hexano.

Para cada repetición se empleó una serie de 6 matraces con 20 ml de medio de cultivo Caldo Sabouraud Dextrosa (CSD); todos ellos fueron inoculados con 100  $\mu$ l de las suspensiones fúngicas, equivalentes a  $1.5 \times 10^5$  propágulos fúngicos. A cuatro de los matraces se les añadieron dosis crecientes del extracto en estudio (50, 75, 100 y 125  $\mu$ l).

Los dos frascos restantes fueron los controles. Se incubó en baño metabólico a temperatura de 27°C ( $\pm 2$ ) por un periodo de 4 días para *T. rubrum* y 6 días para *M. canis*. Al término de ese periodo se resembró una alícuota de 100 $\mu$ l de cada frasco de cultivo líquido en tubos de Agar Papa Dextrosa, previa resuspensión por agitación magnética. El grado de desarrollo se valoró en forma semicuantitativa por cruces y se determinó la Concentración Mínima Fungicida tomando como referencia la concentración del extracto que presentó inhibición absoluta del crecimiento fúngico en las tres repeticiones.

#### 4.3 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *IN VIVO* EN UN MODELO ANIMAL

##### 4.3.1 Diseño del modelo experimental

Se llevó a cabo un estudio experimental, prospectivo, longitudinal, comparativo, con siete repeticiones y distribución al azar entre cuatro grupos, el primero tratado con el extracto hexánico de *L. tridentata* (DC) Cov., el segundo con el extracto hexánico de *C. mexicana* A. Gray, otro como referencia tratado con miconazol en crema y por último, uno sin tratamiento como control. La preparación farmacéutica de los extractos fue en crema, con una concentración ajustada a 1 g% (3.3 ml de los extractos/100 gr de crema), para igualar las condiciones del miconazol.

##### 4.3.2 Hipótesis

Las plantas medicinales de uso tradicional en la herbolaria: *Larrea tridentata* (DC.) Cov, *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle. y *Chrysactinia mexicana* A. Gray, por su actividad antimicótica demostrable *in vivo* en un modelo animal ofrecen la posibilidad de una alternativa terapéutica en las dermatofitosis de tratamiento tópico.

#### 4.3.2 Muestra

Se seleccionó una muestra de 28 conejos machos de raza Nueva Zelanda con un peso comprendido entre los 2.5 y 3 kg. La distribución fue totalmente al azar. Se mantuvieron en jaulas individuales y bajo las mismas condiciones de cuidados y alimentación en el bioterio de la Fac. de Ciencias Químicas de la U.A.S.L.P.

#### 4.3.3 Evaluación de la actividad antimicótica *in vivo*

Se inocularon los conejos por escarificación en la parte posterior de cuello, previo rasurado de la región, con una carga de  $1.5 \times 10^5$  propágulos. Se esperó un periodo de incubación de una semana, en caso necesario se repitió el procedimiento. En la evaluación clínica de los signos de la infección se consideró presencia de eritema, descamación, costras e inflamación, calificados como: 0= ausente, 1= leve, 2= moderado y 3= severo. También se les examinó en conjunto como presencia o ausencia. Dentro de los criterios micológicos se evaluó la presencia de estructuras parasitarias en escamas mediante un examen directo clarificado con KOH al 20%, así como el aislamiento del agente en medio de agar Micobiotic, se consideró para cada uno de los resultados negativos=0, y positivos=1. Se determinó también el puntaje acumulado de los signos clínicos y micológicos. La aparición de reacciones adversas se valoró como presencia o ausencia, entendiéndose como tales el desarrollo de eritema y edema secundarios o la formación de vesículas.

El tratamiento se llevó a cabo diariamente con aplicación tópica de las cremas cada 12 hrs. Se registró la evolución del padecimiento a los 7, 14, 21 y 28 días. En cada revisión se siguió la evolución del padecimiento a través de la suma de los puntos asignados a los signos clínicos y a los resultados micológicos. Se interpretó como curación clínica el momento en que la cifra obtenida se redujo hasta un valor de cero (equivalente a la

eliminación de todos los signos clínicos). Bajo los mismos criterios se determinó la curación micológica. Al mismo tiempo se vigiló la aparición de reacciones secundarias. Para establecer la existencia o no de una diferencia significativa en los resultados se utilizó la prueba de medias de Friedman ( $\alpha=0.05$ ), aplicada tanto para signos clínicos como para la curación micológica, seguida de la comparación simple de medias a partir de los puntajes acumulados por la prueba de Kolmogorov Smirnov a dos colas ( $\alpha=0.05$ ) y aplicando la corrección de Bonferroni. Se empleó el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). Para determinar el porcentaje de recaídas se hizo una revisión clínica y micológica los 15 días de suspendido el tratamiento.

#### 4.3.4 Consideraciones éticas

Se empleó el número mínimo de animales que permitiera garantizar científicamente los resultados. Los animales fueron considerados como seres sensibles y como un imperativo ético cuidarlos y emplearlos debidamente, evitando o minimizando su incomodidad, el sufrimiento físico y el dolor. Se contó con el apoyo de un veterinario para vigilar las condiciones sanitarias de los animales, garantizando su mantenimiento en situaciones ambientales adecuadas, así como la administración de agua y alimentos en cantidad y calidad suficiente.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA *IN VITRO*

Los resultados obtenidos en esta fase del estudio fueron los siguientes: Cinco de los extractos mostraron actividad contra las cepas *T. rubrum* y *M. canis*, solamente el extracto etanólico de *C. mexicana* A. Gray careció de la misma. Los solventes no manifestaron interferencia al ser empleados como control. Para la prueba de hipótesis a través del estudio de la variación se incluyeron todos los tratamientos, las diferentes dosis y los controles, lo que dio un total de 14 comparaciones, a un nivel de confianza (NC) del 95% (Tablas 2 y 3).

Tabla 2 Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antimicótica *in vitro* contra *T. rubrum*

F. V.	G. L.	S. C.	C. M.	F cal	Prob > F
Tratamientos	13	676.1425	52.01096	2758.16	0.0000
Error	56	1.056	0.0188		
Total	69	667.1984			

Tabla 3 Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antimicótica *in vitro* contra *M. canis*

F. V.	G. L.	S. C.	C. M.	F cal	Prob>F
Tratamientos	13	672.827	51.75592	1065.56	0.0000
Error	56	2.72	0.04857		
Total	69	675.547			

Una vez establecida una diferencia significativa en la acción de los diferentes tratamientos, tanto sobre *T. rubrum* ( $F_{13, 56}$ ,  $p < 0.05$ ) como para *M. canis* ( $F_{13, 56}$ ,  $p < 0.05$ ), se procedió a determinar a cual o cuales de ellos se debía la actividad, mediante una

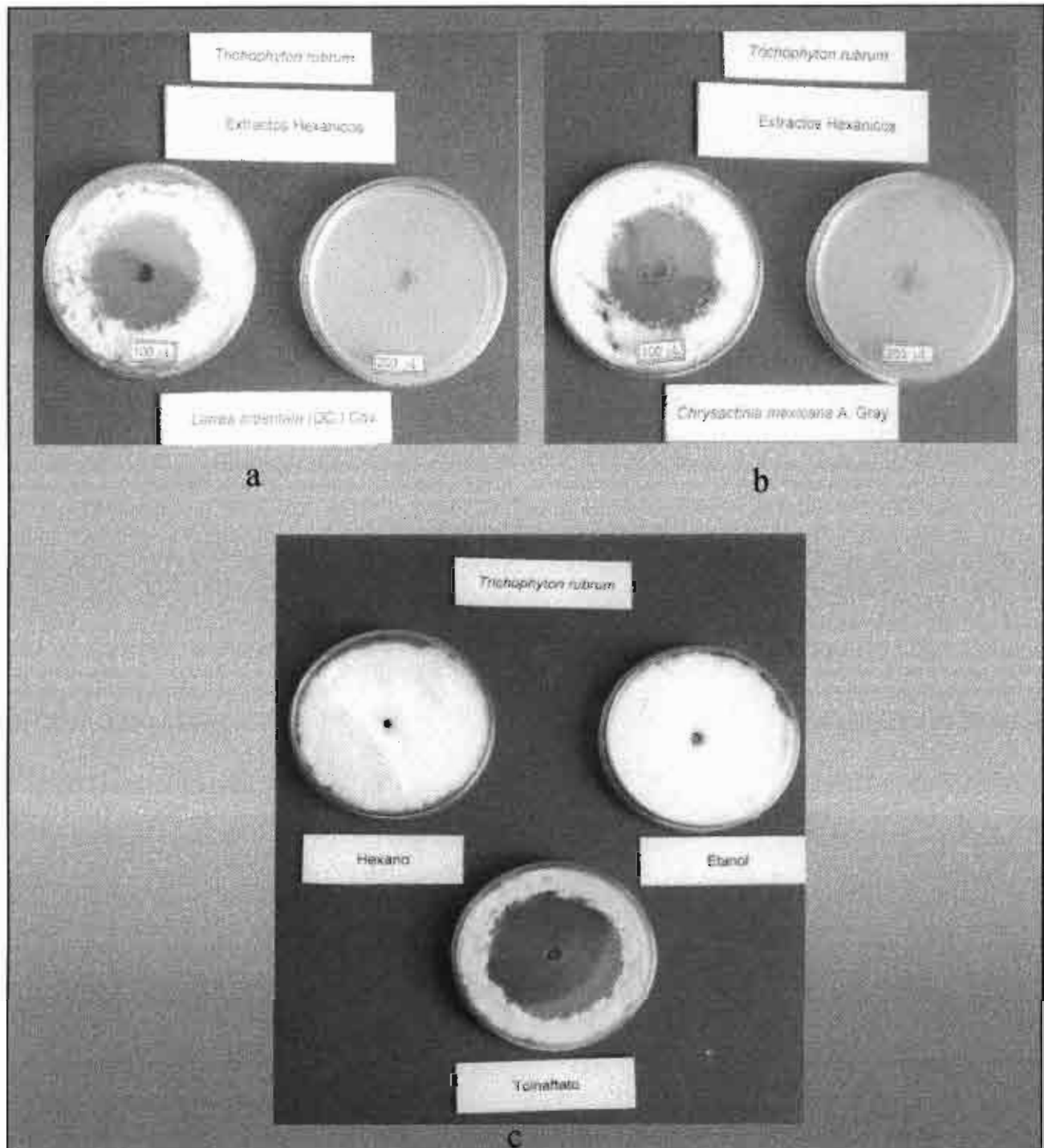
comparación de medias por medio de la prueba de rangos múltiples de Tukey, que expresa los resultados con literales, en donde medias con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí, en caso contrario, si las letras son distintas, si hay diferencia significativa. De esta manera se formaron siete grupos de medias de tratamientos estadísticamente significativos para la cepa de *T. rubrum* (Tukey=0.3047,  $p<0.05$ ) y siete para *M. canis* (Tukey = 0.4891,  $p<0.05$ ). Los grupos de mayor actividad tuvieron medias de los halos de inhibición de desarrollo de 8.04 a 8.5 cm (Figuras 2 y 3) y correspondieron a los extractos hexánicos de *L. tridentata* (DC.) Cov. y de *C. mexicana* A. Gray. a dosis de 60 mg contra *T. rubrum* y de 60 y 75 mg respectivamente contra *M. canis* (Figuras 2 y 3). El extracto etanólico de *L. tridentata* (DC.) Cov. también manifestó una actividad importante a dosis de 60 mg, equivalente a la del tolnaftato en solución al 1%. Los menos activos fueron los extractos etanólico y hexánico de *C. aurantiifolia* (Christ.) Swingle a dosis de 30 mg, con resultados inferiores a los del tolnaftato, sin embargo, ambos extractos muestran semejanza en la actividad entre sí, lo que indica una naturaleza química variada y la presencia de diversos grupos funcionales con distinta polaridad en la molécula. Se presenta un resumen de los resultados en las Gráficas 1 y 2.

## 5.2 CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA

La CMF se determinó sólo para los dos extractos más activos: los hexánicos de *L. tridentata* (DC.) Cov. y *C. mexicana* A. Gray. Se utilizaron los extractos a concentraciones equivalentes de 50, 75, 100 y 125 mg / 100 ml. Al aumentar la concentración de los extractos se apreció una disminución del desarrollo fúngico hasta llegar a la total inhibición del mismo. La CMF se estableció en aquella concentración que logró la inhibición total del crecimiento fúngico en las tres repeticiones (Figura 4). Para el extracto hexánico de *L. tridentata* (DC.) Cov. correspondió a 100 mg /100 ml frente *T. rubrum* y a 125 mg /100 ml contra *M. canis*, mientras que para el extracto hexánico de *C. mexicana* A. Gray fue de 75 mg /100 ml contra *T. rubrum* y 125 mg /100 ml frente a *M. canis*.

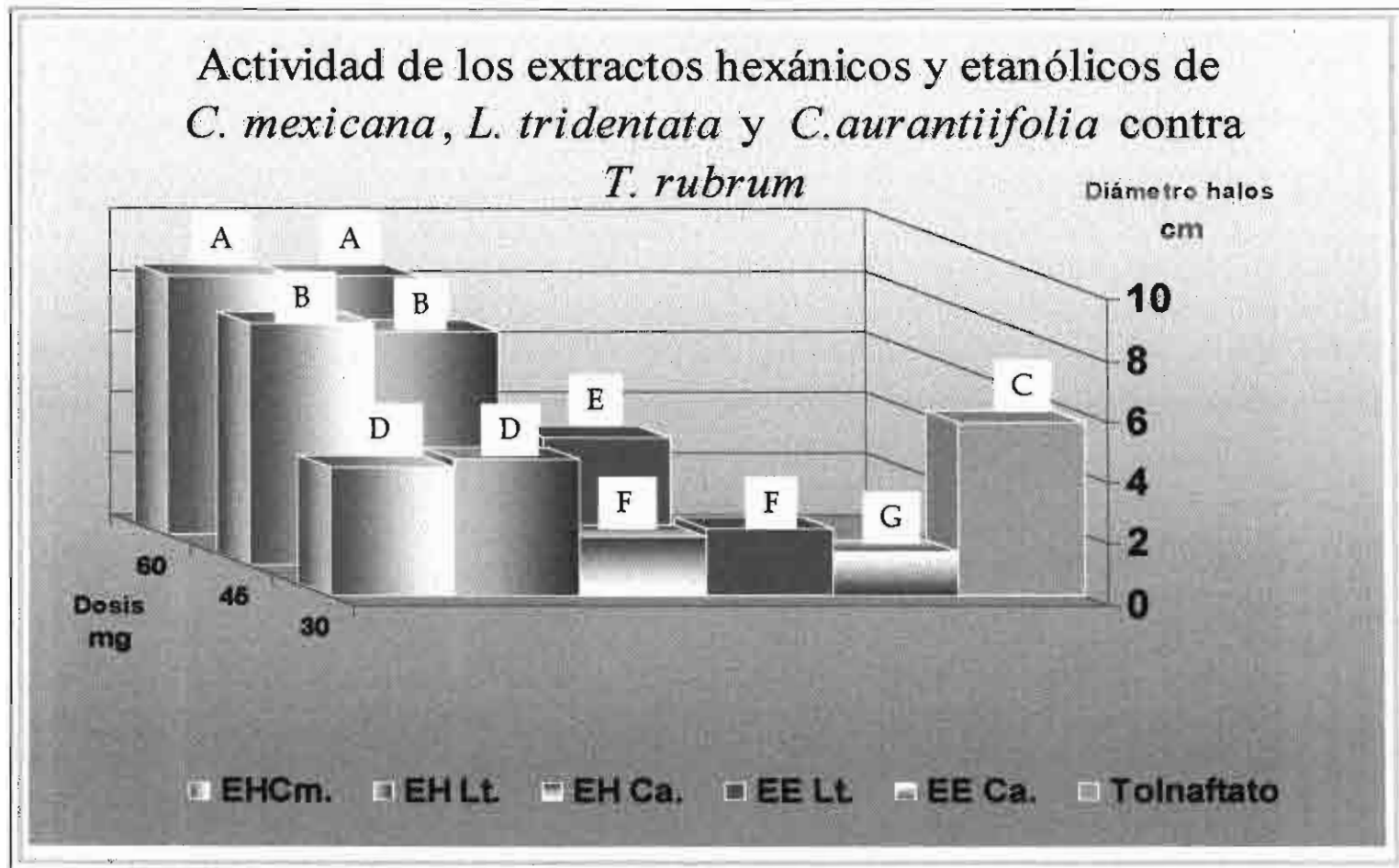
Fig. 2 Actividad *in vitro* sobre *T. rubrum*

- a). Extracto hexánico de *L. tridentata* (DC.) Cov., dosis 45 y 60 mg
- b). Extractos hexánico de *C. mexicana* A. Gray, dosis 45 y 60 mg
- c). Controles: etanol, hexano y tolnaftato





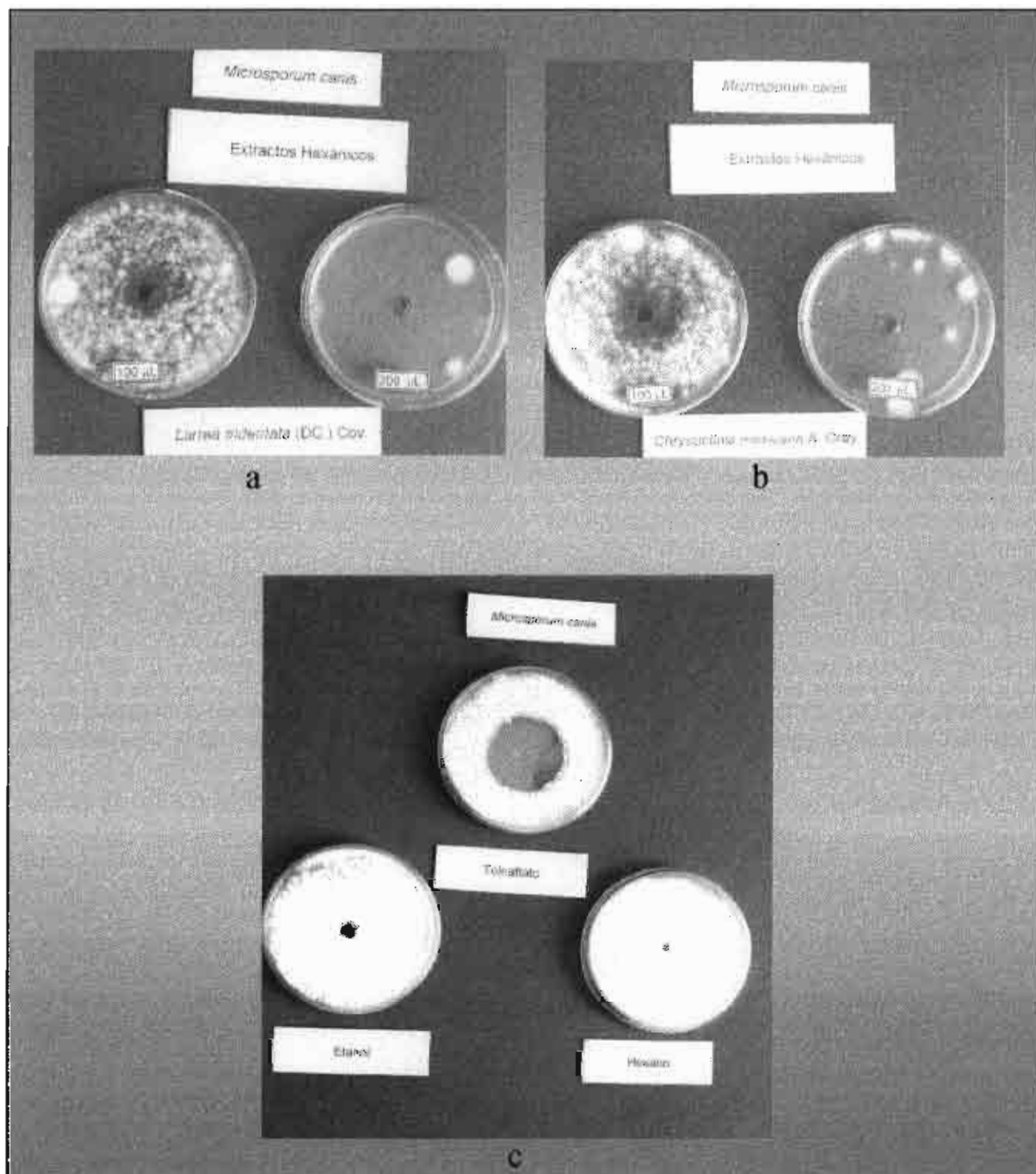
Gráfica 1



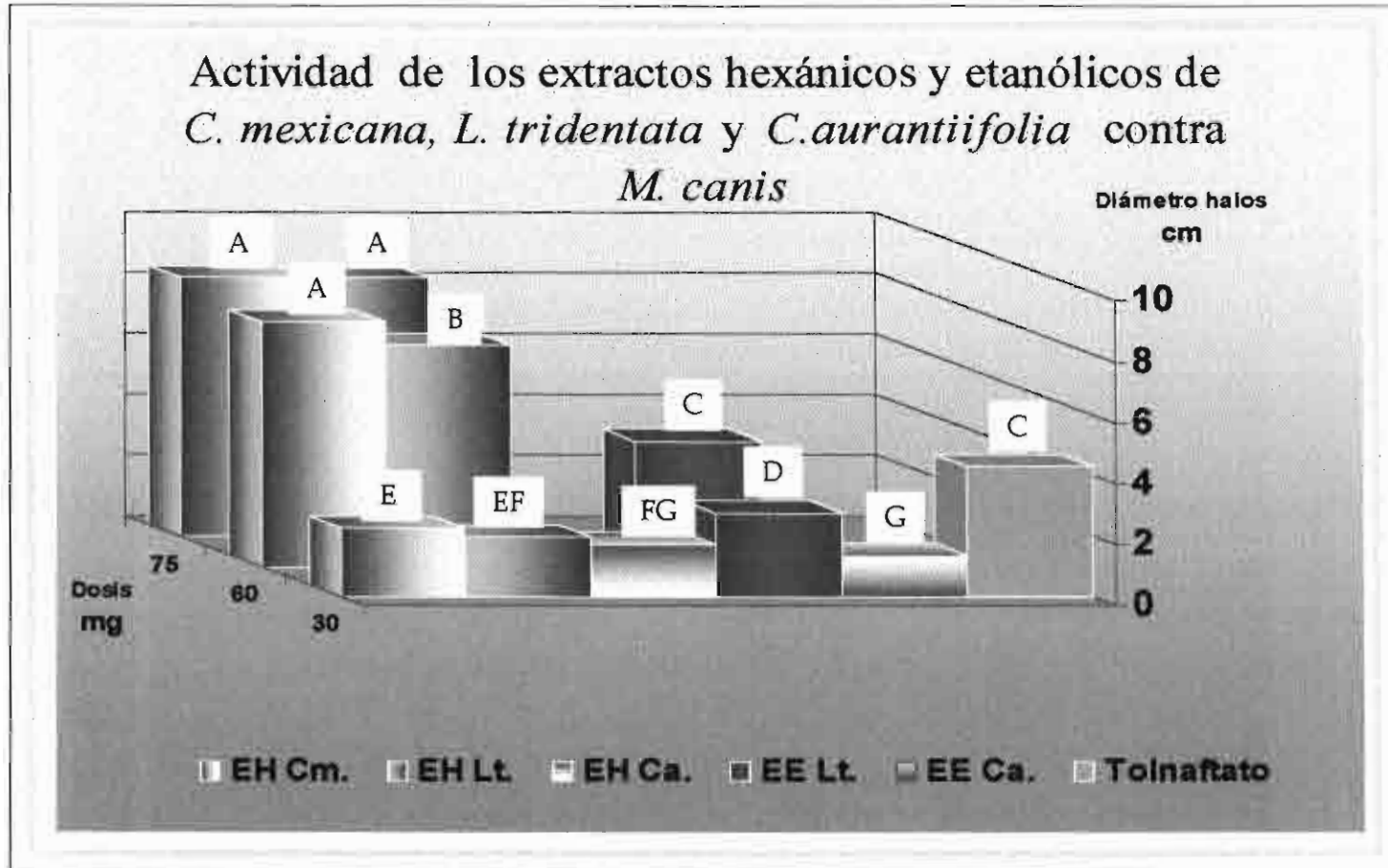
Medida con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí (Tukey=0.3047,  $p < 0.05$ ).  
CV=1.54 %

Fig. 3 Actividad *in vitro* sobre *M. canis*

- a). Extracto hexánico de *L. tridentata* (DC.) Cov., dosis 45 y 60 mg
- b). Extractos hexánicos de *C. mexicana* A. Gray, dosis 45 y 60 mg
- c). Controles: etanol, hexano y tolnaftato



Gráfica 2



Medidas con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí (Tukey=0.4891,  $p < 0.05$ )  
 CV=2.71 %

Fig. 4 Determinación de la Concentración Mínima Fungicida  
a). Cultivos en medio de Caldo Sabouraud Dextrosa  
b). Resiembra en medio de Papa Dextrosa



a



b

### 5.3 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *IN VIVO* EN UN MODELO ANIMAL

El total de los sujetos experimentales (N= 28) mostraron signos clínicos de la infección y pruebas micológicas positivas al inicio del experimento. En el transcurso de las revisiones todos los grupos (n=7) mostraron mejoría clínica, valorada a través de la presencia o ausencia de signos clínicos, sin embargo, la curación clínica solamente se dio en los grupos tratados (Figura 5) y no ocurrió en el grupo control (Gráfica 3) El mismo comportamiento se observó con los criterios micológicos analizados de manera semejante (Gráfica 4).

En el análisis estadístico de los resultados, la prueba de Friedman (NC del 95%), permitió identificar diferencias significativas entre los cuatros grupos del ensayo, a partir, tanto de la suma de los puntajes asignados a los criterios clínicos (Friedman=21.61,  $p<0.05$ ), como a la de los criterios micológicos (Friedman=35.82,  $p<0.05$ ). Para la comparación independiente entre los diferentes grupos se utilizó el puntaje total acumulado entre los resultados clínicos y micológicos (Kolmogorov-Smirnov y corrección de Bonferroni, NC del 95%). La actividad del miconazol al 1 % contra el grupo control mostró una diferencia significativa (KS= 2.39,  $p<0.05$ ) que permitió corroborar la efectividad del tratamiento de referencia. La comparación entre la actividad del extracto hexánico de *L. tridentata* (DC.) Cov. y el miconazol al 1 % no mostró una diferencia significativa (KS = 0.239,  $p>0.05$ ), que en cambio, si se evidenció contra el grupo control (KS=2.151,  $p<0.05$ ), es decir, su comportamiento fue estadísticamente semejante al del miconazol. Los mismos resultados se obtuvieron con el extracto hexánico de *C. mexicana* A. Gray, que frente al miconazol no mostraron una diferencia significativa (KS= 0.359,  $p>0.05$ ), que si se dio frente al grupo control (KS= 2.151,  $p<0.05$ ), por lo tanto, su comportamiento también es estadísticamente semejante al del miconazol. En cuanto a la comparación del efecto de los dos extractos vegetales entre sí, se confirmó una actividad estadísticamente similar (KS = 0.359,  $p>0.05$ ). Ninguno de los dos tratamientos en estudio dio origen a reacciones secundarias. En los tres grupos tratados se presentaron recaídas: miconazol 16.6%, extracto hexánico de *L. tridentata* (DC.) Cov. 33.3% y extracto hexánico de *C. mexicana* A. Gray 60%.

Fig. 5 Actividad antimicótica *in vivo* de la *C. mexicana* A. Gray

a). Infección inicial

b). 14 días de tratamiento

c). 21 días de tratamiento



a

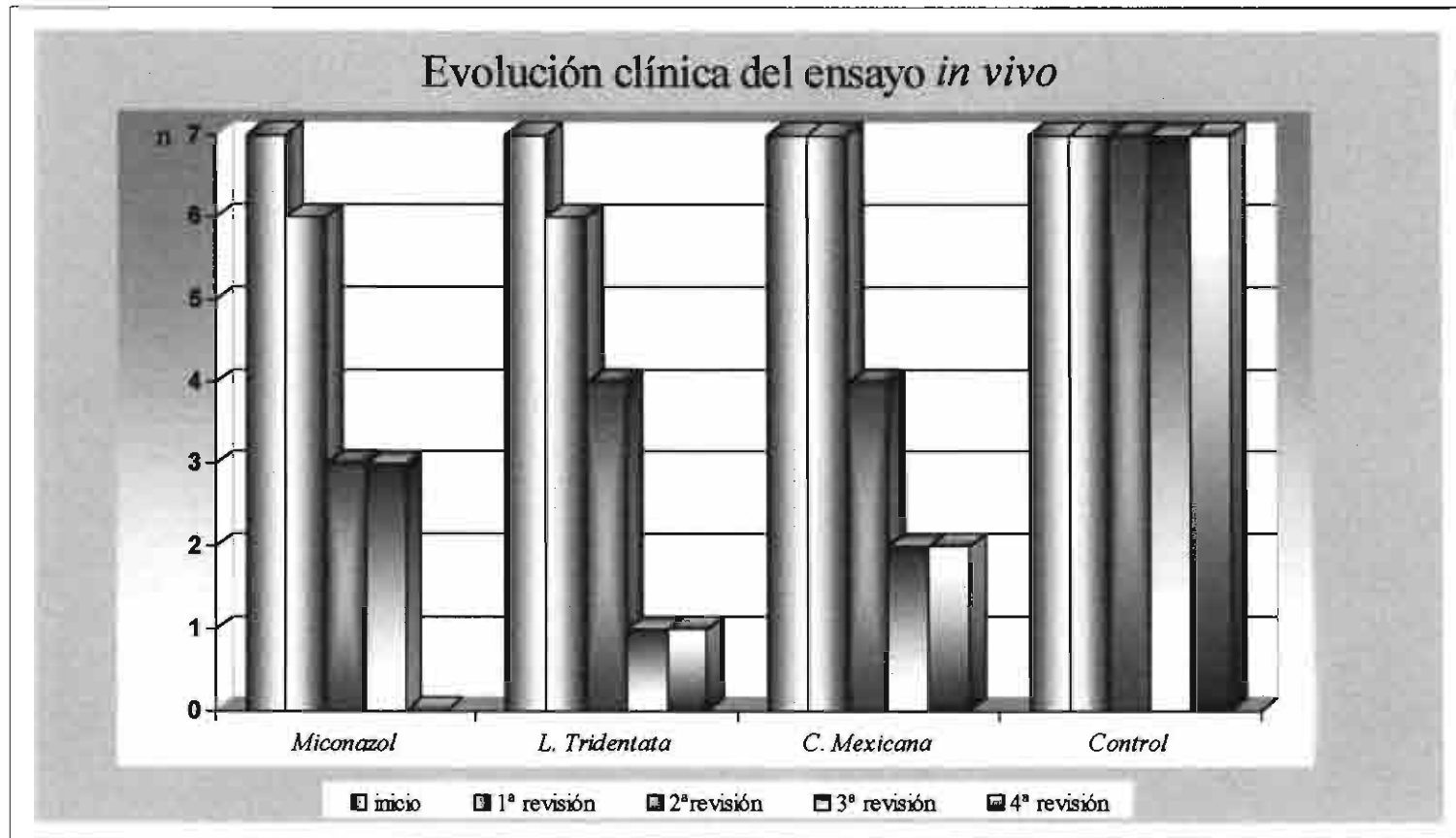


b



c

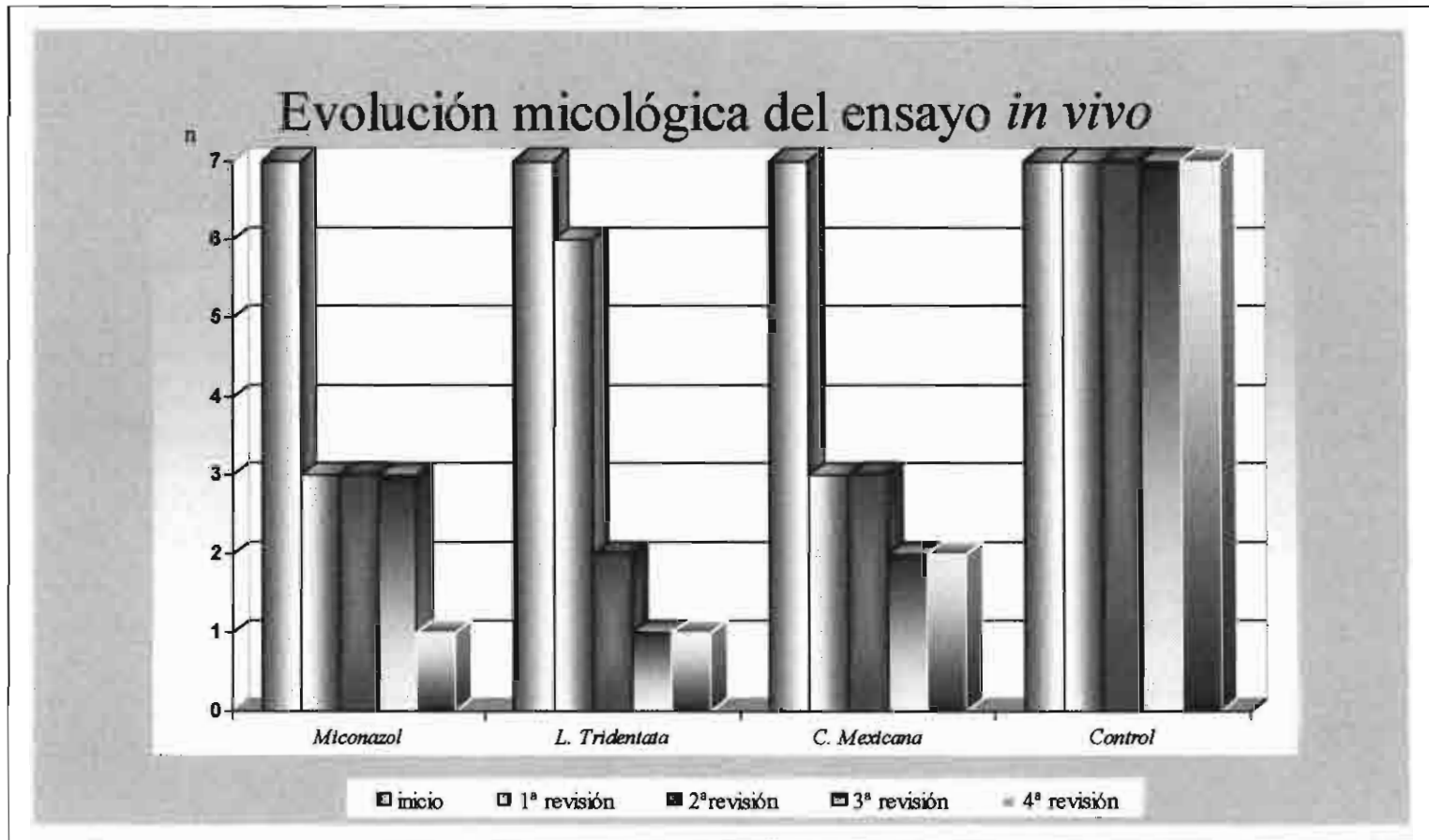
Gráfica 3



N= 28

Friedman = 21.61,  $p < 0.05$

Gráfica 4



N= 28

Friedman = 35.82,  $p < 0.05$



## 6. DISCUSIÓN

Las dificultades para encontrar trabajos que sirvieran de referencia a la presente investigación, ponen en evidencia que el desarrollo de la etnobotánica y la etnofarmacología (donde se incluye a la fitofarmacología), es aun limitado, y que en México, como en otros países que poseen una gran diversidad vegetal y numerosas especies de uso medicinal, hace falta desarrollar estas disciplinas con un enfoque regional que permita contribuir mediante el estudio científico, al engrandecimiento del conocimiento en ese campo de recursos naturales aplicables a la obtención de la salud.

En cuanto al presente trabajo, se estudiaron tres plantas medicinales, dos de ellas regionales: *Larrea tridentata* (DC.) Cov. y *C. mexicana* A. Gray, la tercera cultivada: *C. aurantiifolia* (Christ.) Swingle. De las tres se encontró escasa información a cerca de su actividad antimicrobiana y particularmente de su acción antimicótica; respecto a ello, se menciona la capacidad antiséptica y la actividad *in vitro* contra hongos patógenos de *L. tridentata* (DC.) Cov.,<sup>65, 66</sup> así como el efecto fungicida de *C. aurantiifolia* (Christ.) Swingle<sup>71</sup> y de *C. mexicana* A. Gray<sup>77</sup> contra *A. flavus* Link. En este caso se corroboró la acción antimicótica del extracto hexánico de *L. tridentata*, aumentando a la información su actividad *in vitro* e *in vivo* sobre *M. canis*. En cuanto a las otras dos plantas, se encontró que ambas poseen un espectro de actividad que va más allá de la acción sobre *A. flavus* Link, ya que tienen efecto contra los dermatofitos *M. canis* y *T. rubrum*, especies fúngicas patógenas que resultan importantes por su frecuencia en los cuadros clínicos de dermatofitosis de tratamiento tópico. No obstante, su actividad no fue semejante, puesto que el extracto hexánico de *C. mexicana* A. Gray fue más eficaz *in vitro* que los extractos etanólico y hexánicos de *C. aurantiifolia* (Christ.) Swingle. Respecto a la *C. mexicana* A. Gray, también se identificó una actividad *in vivo* contra *M. canis* estadísticamente semejante a la del miconazol.

Resalta el hecho de que de las tres plantas, una de ellas, la *C. mexicana* A. Gray pertenece a la familia *Asteraceae*, misma que ya ha sido objeto de búsqueda de actividad

antimicrobiana y específicamente antimicótica contra hongos patógenos, como lo demuestran los trabajos ya mencionados de Rai y Acharya (1999) en el ámbito internacional, en donde se estudió la actividad de 31 especies de plantas de esta familia contra *Fusarium oxisporum* y *Trichophyton mentagrophytes* encontrando actividad en 29 de ellas, en México, Villareal y col. (1994) demostraron el efecto de 12 especies sobre cepas de *Candida albicans*. En este estudio, se añade una especie activa más de esta familia a las ya conocidas, la *C. mexicana* A Gray, con una actividad antimicótica que admite la posibilidad de ser usada como terapéutica contra las dermatofitosis de tratamiento tópico.

Otro aspecto substancial de los resultados es que tradicionalmente las plantas estudiadas son usadas por la población directamente (como es el caso de la gobernadora) o bien, preparadas como decocción o en maceración etanólica y es evidente que la extracción de los principios activos, particularmente de la *L. tridentata* (DC.) Cov. y de la *C. mexicana* A. Gray es más eficiente cuando se realiza a partir de solventes no polares, por lo que su actividad mediante el uso popular puede ser menos eficaz que la empleada en el estudio.

En cuanto a la CMF, es necesario aclarar que se decidió usar para el ensayo *in vivo* una concentración más alta que la obtenida *in vitro*, en primer lugar para igualar lo más cercano posible a las condiciones del agente comercial que sirvió de referencia y en segundo lugar porque se ha descrito que esta cifra no siempre tiene una correlación directa con la actividad terapéutica, como lo describe Odds respecto al trabajo de Rex y col., en el que determinaron la CMI para cepas de género *Candida* y encontraron resistencia al fluconazol y al itraconazol y sin embargo la respuesta clínica fue positiva en el 55% de los pacientes.<sup>82</sup> En este caso, la concentración utilizada a pesar de ser más alta que la CMF no evitó las recaídas en el ensayo *in vivo*. Se pueden plantear dos interpretaciones, una de ellas sería que esa concentración no es suficiente para actuar como fungicida, o bien, que el esquema de utilización requiere de una mayor frecuencia en las aplicaciones.

Algo que vale la pena señalar es que, bajo ninguno de los tratamientos se presentaron reacciones adversas, a pesar de que dentro de la literatura se menciona a la dermatitis por contacto como un efecto secundario al uso de *L. tridentata* (DC.) Cov.,<sup>65</sup> lo que podría explicarse sobre la base de las diferencias químicas entre los principios activos extraídos con el hexano y los que están presentes en las formas terapéuticas preparadas por la población.

Ubicando el trabajo en un plano más general y tomando en consideración la situación de la herbolaria en México dentro de los modelos médicos existentes, indiscutiblemente que a pesar de que las políticas marcadas por la OMS han sido encaminadas a tratar de resolver las necesidades en salud de pueblos en vías de desarrollo mediante la aplicación de las medicinas tradicionales, existen contradicciones en las decisiones que se toman, probablemente como consecuencia de que la medicina occidental sigue siendo identificada como un modelo médico hegemónico que cumple funciones de cura y prevención e incluso de control social, dominio ideológico y exclusividad jurídica.<sup>83</sup> No obstante esto último, aún dentro del modelo de salud predominante, la identificación de principios activos derivados de productos vegetales y su caracterización química puede ser el inicio de una industria farmacéutica nacional que permita abatir los altos costos de los medicamentos.

Otro de los factores que contribuyen a esa falta de aceptación de los conocimientos empíricos por parte del modelo occidental es la concepción mágico religiosa que gira alrededor del proceso salud-enfermedad y que resulta predominante en la terapia médica tradicional;<sup>84</sup> sin embargo, investigaciones como la que se presenta ahora, pueden contribuir a derribar esas barreras al dar un sustento científico al conocimiento popular, pues a pesar de que la medicina tradicional no siempre comparte los principios de la medicina institucional moderna, su sustrato empírico científico en muchos de los casos es racional, tan es así que, la evaluación empírica de 118 plantas medicinales aztecas identificadas en documentos coloniales tempranos reveló que casi un 85% de los remedios vegetales contienen sustancias bioquímicas que producirían el efecto curativo deseado.<sup>6</sup>

## 7. CONCLUSIONES

Los extractos hexánicos de *Larrea tridentata* (DC.) Cov., *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle y *Chrysactinia mexicana* A. Gray tuvieron actividad *in vitro* contra las cepas fúngicas *T. rubrum* y *M. canis*, mientras que de los etanólicos solamente dos la presentaron, los de *Larrea tridentata* (DC.) Cov. y los de *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle.

El extracto etanólico de *Larrea tridentata* (DC.) Cov. a una dosis equivalente a 60 mg (referidos a planta seca) mostró una actividad *in vitro* semejante a la de 100 mg de tolnaftato en solución, mientras que para los extractos hexánico y etanólico de *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle esta fue significativamente inferior a la del tolnaftato.

Los extractos más activos en la fase *in vitro* fueron los hexánicos de *Larrea tridentata* (DC.) Cov. y *Chrysactinia mexicana* A. Gray, que mostraron una eficacia significativamente superior a la del tolnaftato en solución frente a las dos cepas fúngicas: *T. rubrum* y *M. canis*, por lo que fueron seleccionados para llevar a cabo la determinación de la Concentración Mínima Fungicida y la valoración de su actividad *in vivo*. En cuanto a la CMF, los resultados mostraron mayor sensibilidad de la cepa *T. rubrum* a los dos extractos, mientras que *M. canis* presentó una susceptibilidad inferior.

En la fase *in vivo* tanto el extracto hexánico de *Larrea tridentata* (DC.) Cov. como el de *Chrysactinia mexicana* A. Gray presentaron actividad antimicótica contra la infección inducida en conejos con la cepa de *M. canis*, que al ser comparada de manera independiente con la del miconazol no evidenció una diferencia estadísticamente significativa, que en cambio si se dio al comparar contra el grupo control. En todos los tratamientos incluyendo al de referencia hubo recaídas, que se presentaron en orden de importancia, primero para el extracto de *C. mexicana* A. Gray, seguida del de *L. tridentata* (DC.) Cov. y por último para el miconazol.

De acuerdo a los resultados anteriores, los extractos hexánicos de *L. tridentata* (D.C.) Cov. y *C. mexicana* A. Gray., por sus propiedades antimicóticas, constituyen una posible alternativa terapéutica para las dermatofitosis de tratamiento tópico, acorde con las políticas de Salud Pública que busca la integración de los modelos médicos tradicionales con el modelo hegemónico de la salud, en su preocupación por resolver los problemas de los países menos favorecidos económicamente.

## 8. RECOMENDACIONES

Para lograr continuidad en el estudio, sería recomendable establecer una línea de investigación dentro de la fitofarmacología, que retomara la evaluación de la actividad antimicótica de las plantas incluidas en el estudio, el mayor apremio quizá sería determinar la manera de evitar las recaídas que se tuvieron con los extractos hexánicos de *L. tridentata* (DC.) Cov. y de *C. mexicana* A. Gray. En este sentido, se podrían plantear diferentes alternativas para impedir las recaídas, una de ellas sería modificar el esquema de aplicación e incrementar a tres aplicaciones diarias, sin embargo esto podría disminuir la adherencia terapéutica del paciente. Otra solución, sería aumentar las concentraciones de los extractos.

Respecto a *Citrus aurantiifolia* (Christ.) Swingle, su acción limitada requiere una investigación más profunda, entre otras cosas, sería importante determinar en que parte o partes del fruto se encuentran las sustancias activas y así aumentar las posibilidades de obtener mejores resultados, otro aspecto de interés en esta planta es que, tanto el extracto etanólico como el hexánico muestran una actividad semejante, lo que indica una naturaleza química variada y la presencia de diversos grupos funcionales con diferente polaridad en la molécula.

Antes de proceder a desarrollar un protocolo en humanos sería conveniente evaluar mediante un ensayo *in vivo* y a niveles de significación, la posibilidad de desarrollo de reacciones secundarias adversas.

Tomando en consideración el gran potencial que ofrecen las plantas medicinales, también sería conveniente estudiar el espectro de acción de los extractos frente a otras cepas fúngicas de importancia médica; como aquellas asociadas a la queratomycosis y a la cromomycosis, padecimientos con tratamientos poco accesibles en nuestro país. Otra alternativa es ampliar su espectro de acción hacia los hongos de micosis sistémicas.

En un contexto más general, respecto a la incorporación de la herbolaria como una alternativa terapéutica, lo que se requiere para pasar del empirismo a una práctica científica bien sustentada es favorecer el desarrollo de la etnobotánica y la etnofarmacología. En ese sentido es donde el Sistema de Salud de México podría redoblar sus esfuerzos, e incorporar a otras de sus instituciones a este tipo de investigación, pues en la actualidad, solamente el Instituto Mexicano del Seguro Social se ocupa de ello, y ha desarrollado un intenso trabajo dentro de la etnobotánica, que le permite contar actualmente con un herbario que agrupa 11 156 ejemplares y está considerado como la colección de plantas secas más rica del país.<sup>85</sup> De la misma manera se necesita impulsar el crecimiento de la etnofarmacología, campo de investigación que aún requiere mucha participación tanto de las mismas instituciones de salud como de las educativas, para que con investigación científica se determinen las posibles propiedades terapéuticas que la gran riqueza que la flora mexicana ofrece, así como los probables riesgos que su aplicación encierra, y posteriormente poder llegar a la obtención de formas curativas de origen regional, más sencillas, accesibles, económicas y culturalmente adecuadas para los diferentes núcleos poblacionales.

Por último, si es verdad que se acepta la necesidad de la coexistencia de los diversos modelos para dar respuesta a las necesidades de los variados grupos culturales que conforman nuestro país, es necesario como señala el maestro Aguirre Beltrán (*Medicina y Magia, El proceso de aculturación en la estructura colonial*): “recuperar el valor de la medicina popular mexicana, ya no como una simple y desgastada supervivencia del mundo prehispánico mesoamericano o una expresión más de la medicina indígena, sino dándole una nueva proyección al considerarla como una práctica curativa multiforme, producto del largo proceso de aculturación”, y destacar también la complementariedad de los saberes y prácticas curativas desplegadas por los diversos conjuntos sociales y sus curadores.<sup>86</sup>

## 9. LIMITANTES

Uno de las principales limitaciones fue la imposibilidad de estudiar *in vivo* los extractos que manifestaron menor actividad, por razones económicas y carencia de infraestructura. Otra dificultad importante que se presentó fue la ausencia de una metodología estandarizada para llevar a cabo las pruebas de sensibilidad *in vitro* para hongos filamentosos; la que existe está referida a levaduras y en este caso se hizo una adaptación. Un factor que influyó en los resultados obtenidos fue, el no haber localizado en la literatura investigaciones precedentes respecto a las dosis o concentraciones de los extractos, que hubieran servido de referencia para utilizar las más convenientes e impedir de esa manera las recaídas en el ensayo *in vivo*.

La obtención de una muestra homogénea del modelo animal para ésta última fase, también planteó considerables dificultades, ya que no existe un desarrollo de líneas de crianza para animales de experimentación. Así mismo hubiera resultado interesante tener un modelo para evaluar *in vivo* la actividad de los extractos contra *T. rubrum*, puesto que la CMF de los mismos fue menor ante esa especie, pero, dada la naturaleza antropofílica de la cepa, sólo puede ser estudiada un modelo humano.



## 10. BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> OMS, UNICEF. Conferencia internacional sobre atención primaria para la salud. Bol Of Sanit Panam 1979; 86: 265.
- <sup>2</sup> Frenk J. La salud de la población hacia una nueva salud pública. México D. F. Fondo de Cultura Económica 1994: 42.
- <sup>3</sup> Blancas F. Medicina alternativa y dermatología. Dermatología Rev Mex marzo-abril 1999; 43:V.
- <sup>4</sup> Pahlow M. Gran manual de plantas medicinales. Madrid: Ed Everest, 1995:6, 7.
- <sup>5</sup> Cifuentes E. Ortega M A. herbolaria y tradiciones de un pueblo Nahuatl. México: UNAM Coordinación de la Investigación Científica, 1990: 12.
- <sup>6</sup> Bye R, Linares E. Plantas medicinales del México prehispánico. Arqueología Mexicana 1999; vol. 7: 4-13.
- <sup>7</sup> Lozoya X. Un paraíso de plantas medicinales. Arqueología Mexicana 1999; vol. 7: 14-21.
- <sup>8</sup> Cariño-Preciado LF, Olmo-Linares G. Euatl. La dermatología en el código de la Cruz-Badiano. México: Lab. Roche, 1998: 1.
- <sup>9</sup> Viesca-Treviño C. Uso de las plantas medicinales mexicanas. Arqueología Mexicana 1999; vol. 7: 30-34.
- <sup>10</sup> Rivera-Arce E. Arqueología Mexicana 1999; vol. 7: 54-59.
- <sup>11</sup> Taddei-Bringas G A, Santillana-Macedo M A, Romero-Cancio J A, Romero Téllez M B. Aceptación y uso de la herbolaria en medicina familiar Salud Publica Mex 1999; 41; 216-219.
- <sup>12</sup> Estrada-Lugo E. Plantas medicinales de México. 2ª. Ed. Chapingo. Universidad Autónoma de Chapingo, 1995: 31.
- <sup>13</sup> Nicasio-Torres M P, Meckes-Ficher M. Evaluation of biological activities of *Jacaranda mimosaeifolia* methanolic extracts. Phamacology 1993; 24: 88.
- <sup>14</sup> Melesio G, Villareal M L, Martínez G, Benites-Bibriesca L. Antitumor activity of amphipterygium adstringens bark extracts on AS-30D rat hepatoma. Phamacology 1993; 24: 87.

- 
- <sup>15</sup> Campos-Bedolla P, Uribe-Aranzabal MC, Ponce-Monter H. The in vitro effect on rat uterus of the cauradienoic acid isolated from Zoapatle (*Montanoa tomentosa*). *Pharmacology* 1993; 24: 82.
- <sup>16</sup> Lemus H, Meckes M, Camorlinga M, De la Rosa P, Torres J, Muñoz O. *In vitro* antimicrobial activity of *Helianthemum glomeratum*. *Pharmacology* 1994; 25: 82.
- <sup>17</sup> Tortoriello J, Meckes-Fischer M, González J L. Sedative activity of non-polar fraction from *Psidium guajaba* leaves. *Pharmacology* 1994; 25: 126.
- <sup>18</sup> Villareal M L, Alvarez L, Alonso-Cortés D, Navarro V, García P, Delgado G. Cytotoxic and antimicrobial action of selected terpenoids from *Asteraceae* species. *Pharmacology* 1994; 25:127.
- <sup>19</sup> Garzon P, Navarro-Ruiz A, Domínguez-Rodríguez J R, González-Ballesteros A, Bastidas-Ramírez B E. Anticonvulsive activity of *Ipomea stans* extract. *Pharmacology* 1994; 25: 128.
- <sup>20</sup> San-Blas G. Antibióticos antifúngicos: hacia la búsqueda de antibióticos selectivos. *Rev Iberoam Micol* 1991; 8: 24-34.
- <sup>21</sup> Grayer R J, Kokubun T. Plant-fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry* 2001; 56:253-263.
- <sup>22</sup> Montes-Belmont R, Productos naturales de origen vegetal para el combate de fitopatógenos. *Rev Mex Fitopatol* 1996; 14: 9-13.
- <sup>23</sup> Rai M, Acharya D. Screening of some Asteraceous plants for antimicrobial activity. *Comp. Newsl* 1999; 34: 37-43.
- <sup>24</sup> Corticchiato M, Bernardini A, Costa J, Bayet CH, Saunios A, Voirin B. Free flavonoid aglycones from *Thymus herba barona* and its monoterpenoid chemotypes. *Phytochemistry* 1995; 40: 115-120.
- <sup>25</sup> Al-Khalil A, Masalmeh A, Abdalla S. N-Arachidylanthranilic acid, a new derivative from *Ononis natrix*. *Journal of Natural Products* 1995; 58: 760-763.
- <sup>26</sup> Mendonca-Pauletti P, Regina-Araujo A, Marx-Young C, Giesbrecht A M, Da Silva-Bolzani V. nor-Lignans from the leaves of *Stirax ferrugineus* (*Styracaceae*) with antibacterial and antifungal activity. *Phytochemistry* 2000; 55: 597-601.
- <sup>27</sup> Mathekga A D M, Meyer J J M, Horn M M, Drewes S E. An acetylated phoroglucinol with antimicrobial properties from *Helichrysum caespitium*. *Phytochemistry* 2000; 53: 93-96.

- 
- <sup>28</sup> Robalo M M, Graue W B, Potencial alelopático y microbici da de *Helietta parvifolia*. Biotica 1982; vol. 7: 403-415.
- <sup>29</sup> San-Blas G. Op. Cit. 20.
- <sup>30</sup> Bonifaz A, Muñoz-Ayala M J, Mongue B. Estudio de la actividad in vitro de la alicina (principio activo del ajo) en el tratamiento de tiñas del cuerpo e inguinal. Dermatología Rev Mex 1990; vol. 34:199-204.
- <sup>31</sup> Alba F J, Tovar C, Villegas M, Herrera L, Silva R. Estudio preliminar de la actividad antifúngica de *Beschorneria yuccoides* sobre tres dermatofitos. Memorias del IV Congreso Nacional de Micología. Tlaxcala Tlax. México 1991: 46.
- <sup>32</sup> Cornejo-Gómez M R, Zavalza-Stiker A, Díaz Ruiz Y, Moreno -Guerrero E, Valle Aguilera L E, González Chavez M M, Rojas-Tinoco . Estudio de la actividad antimicótica de los metabolitos secundarios aislados y caracterizados de *Larrea tridentata*. Bioquímica Memorias XXI Congreso Nacional, México 1998: 91.
- <sup>33</sup> Lopez-Sánchez C, Rodríguez-Mendiola M A, Arias-Castro C, Villarreal- Ortega ML: Cultivo *in vitro* (raíces) de *Solanum chysotrychum* para la producción de compuestos con actividad antimicótica. Memorias del XII Congreso Mexicano de Botánica. Mérida Yuc. 1993: 151.
- <sup>34</sup> Bonifaz A. Micología médica Básica. 2ª . México D.F.: Méndez Editores, 2000: 35.
- <sup>35</sup> International Statistical Clasification of Diseases and related Health Promblems 10 th Revision. Ginebra; OMS. Publicación Científica 1992: 554.
- <sup>36</sup> Carrada-Bravo T, Cifuentes J. Las tiñas en los niños: avances y perspectivas. Pediatría Rev Mex 1991; 58: 117-139.
- <sup>37</sup> Revisión del Primer Consenso Nacional de Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de Micosis superficiales. UNAM 2001:11.
- <sup>38</sup> Montero-Gei F. Atlas de Dermatomicosis. Pfizer 1999; 2:17.
- <sup>39</sup> Bonifaz A. Op. Cit, 34: 38-40.
- <sup>40</sup> Rhippon J W. Tratado de micología médica. 3º. México. Editorial Interamericana, Mc Graw-Hill, 1990: 197-199.
- <sup>41</sup> Fitzpatrick T B, Eisen A Z, Freedberg I M, Austen K F. Dermatology in general medicine. 4º Ed. New York Mc Graw-Hill, 1993; vol. II: 2427-2439.
- <sup>42</sup> Saúl A. Lecciones de dermatología. 9º Ed. México. Méndez Cervantes, 1979:63-64.

- 
- <sup>43</sup> Arenas R. Micología médica ilustrada. México: Interamericana - Mc Graw-Hill, 1993: 65.
- <sup>44</sup> Arenas R. Dermatología Atlas, diagnóstico y tratamiento. 2º Ed. México. Interamericana - McGraw-Hill, 1996: 325.
- <sup>45</sup> Ruiz-Maldonado R, Charles P L, Beare J M. Dermatología pediátrica. Philadelphia. McGraw-Hill-Interamericana, 1992: 535, 541, 544.
- <sup>46</sup> Vázquez-De Mercado E, Arenas R. Epidemiología y causas de la tiña del cuerpo. Dermatología Rev Mex noviembre-diciembre 1999; 43: 260-263.
- <sup>47</sup> Gómez M, Arenas R, Salazar J J, González A, Moncada B, Rodríguez G. Tiña de los pies. Estudio multicentrico para valorar la eficacia y tolerancia de una dosis semanal de fluconazol. Dermatología Rev Mex 1996; 40 (4): 251-255.
- <sup>48</sup> Guzmán Ch R, Cervantes O R. Aislamiento de hongos dermatofitos en la piel de perros de la ciudad de Cuernavaca Mor. Abst. C36. XXIII Congreso Anual de la Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica. San Luis Potosí, S.L.P. Octubre 21-24, 1998: 540.
- <sup>49</sup> Secretaría de Salud. Información epidemiológica de morbilidad 1996. Dirección General de Epidemiología 1996: 12.
- <sup>50</sup> 1º Consenso nacional de prevención, diagnóstico y tratamiento de micosis superficiales. Academia Mexicana de Dermatología y Sociedad Mexicana de Dermatología 1999: 13.
- <sup>51</sup> Chávez-Gaytan R, Gamiño-Gutiérrez S, López-Gutiérrez A, Martínez-Gutiérrez F. Experiencia micológica en la Huasteca Potosina. LAB-acta 1994; 6: 53-57.
- <sup>52</sup> Bonifaz A. Op. Cit. 34.
- <sup>53</sup> 1º Concenso nacional de prevención, diagnóstico y tratamiento de micosis superficiales. Op. Cit. 50.
- <sup>54</sup> Intini C, Battaglia A, Mangiarotti A M; Picco A M, Viaro D, Sacceti G. Multicentre clinical study with tolcliate in the local tratament of skin mycoses in 1083 patients. Pharmatherapeutica 1980; 2: 439-449.
- <sup>55</sup> García-González E, Andrade -Martínez R, Salgado-Loza J. Eficacia de terbinafina crema al 1% en *tinea pedis* y *cruris* con siete días de tratamiento. Investigación Médica Internacional 1994; 21: 152-156.

- 
- <sup>56</sup> Bonifaz A, Muñoz-Ayala M de J, Mongue B. Op. Cit. 30.
- <sup>57</sup> Amado S, Bonifaz A, Tepeyac G. Itraconazole in common dermatophyte infections of the skin: fixed treatment schedules 1990; 23: 554-560.
- <sup>58</sup> Gómez M, Arenas R, Salazar J J, González A, Moncada B, Rodríguez G. Op. Cit., 47.
- <sup>59</sup> Guzmán G, López-Martínez R, Manzano-Gallosso P, Ríos-Rosas C, Romero-Martínez R. Brote epidémico de dermatofitosis por *Microsporum canis*. *Dermatología Rev Mex* 1996;40(1): 21-23.
- <sup>60</sup> Granjero-Colín E, García-Vázquez Z, Cervantes-Olivares R, Guzmán-Chavez R E. Prevalencia de dermatomicosis en perros del área urbana de Cuernavacas Morelos, México. *Vet Mex*, 1999; 31: 161-163.
- <sup>61</sup> Scott D W, Miller W H, Griffin C E. *Small Animal Dermatology*. 5° Ed. Philadelphia W.B Saunders Company, 1995: 332-350.
- <sup>62</sup> Campos-López E, Mabry T J, Bohnstedt Ch F. *Larrea: A Chemical Resource*. *Larrea*, serie del desierto. Centro de Investigación en Química Aplicada. México 1979; 2: 217-235.
- <sup>63</sup> Argueta-Villamar A, Cano-Assleih L, Rodarte ME, Gallardo-Vázquez M C, Cortés-Leya B, Linares-Altamirano M, "et al". Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. México, D.F: Instituto Nacional Indigenista, 1994; vol. II: 669.
- <sup>64</sup> Campos-López E, Mabry T J, Bohnstedt Ch F. Op. Cit. 62.
- <sup>65</sup> Argueta-Villamar A, Cano-Assleih L, Rodarte ME, Gallardo-Vázquez M C, Cortés-Leya B, Linares-Altamirano M, "et al". Op. Cit. 63.
- <sup>66</sup> Cornejo-Gómez M R, Zavalza-Stiker A, Díaz-Ruiz Y G, Moreno-Guerrero E, Valle-Aguilera L E, González-Chavez M M, Rojas-Tinoco M E. Estudio de la actividad antimicótica de los metabolitos secundarios aislados y caracterizados de *Larrea tridentata*. *Bioquímica Memorias XXI Congreso Nacional*, México 1998: 91.
- <sup>67</sup> Argueta-Villamar A, Cano-Assleih L, Rodarte ME, Gallardo-Vázquez M C, Cortés-Leya B, Linares-Altamirano M, "et al". Op. Cit. 63.
- <sup>68</sup> Torres-Rodríguez J M. Tratamiento y farmacología de las micosis. En: *Micosis que afectan piel y mucosas*. Barcelona: Ed. Doyma, 1987: 154.
- <sup>69</sup> Trease E, Evans E CH, *Tratado de farmacognosia*. 12ª. México. Ed. Interamericana, 1987: 207.

- 
- <sup>70</sup> Argueta-Villamar A, Cano-Assleih L, Rodarte ME, Gallardo-Vázquez M C, Cortés-Leya B, Linares-Altamirano M, "et al". Op. Cit. 63: 905.
- <sup>71</sup> Cárdenas -Ortega N C. Plantas de la familia *Rutaceae* con actividad fungicida en *Aspergillus flavus* Link. (tesis). San Luis Potosí (S.L.P): Universidad Autónoma de San Luis Potosí; 1998.
- <sup>72</sup> Martínez M. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. México: Fondo de Cultura Económica, 1994: 1082.
- <sup>73</sup> Rzedowski C G, Rzedowski J. Flora fanerogámica del valle de México. CONABIO e Instituto de Ecología A.C., 2001; vol. 2: 917
- <sup>74</sup> Salas S L, La familia *Compositaceae* de la zona árida del estado de San Luis Potosí, México. Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, UASLP; 1987; vol. 2: 217-219.
- <sup>75</sup> González E M. Las plantas medicinales de Durango. Cuadernos de Investigación Tecnológica, IPN 1984; vol. 2: 26-29.
- <sup>76</sup> Juárez F B I. Especies silvestres de la familia *Compositae* con actividad insecticida sobre el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motch. (Coleoptera: Curculionidae) (tesis) San Luis Potosí (S.L.P.):U.A.S.L.P., 1998.
- <sup>77</sup> Hernández-Del Angel F A, Jasso-Pineda Y, Cárdenas-Ortega N C, Juárez-Flores B I, Fortanelli-Martínez J. Actividad insecticida y antifúngica de dos especies de la familia *Asteraceae*. Acta Científica Potosina 2000; vol. XV: 40-51.
- <sup>78</sup> Carrilo-Muñoz A J, Abarca-Salas L, Quindós G. Pruebas de estudio de sensibilidad a los antifúngicos. Factores y variables que influyen en su realización en el laboratorio. Rev Iberoam Micol 1994; vol. 11: 105-110.
- <sup>79</sup> Bonifaz A, Muñoz-Ayala M de J, Mongue B. Op. Cit. 30.
- <sup>80</sup> Greer D, Jolly H W. Comparative trial of a two-dosage schedule of ketoconazole 2% cream for the treatment of tinea pedis. J AM Acad Dermatol 1987; 17: 53-56.
- <sup>81</sup> Tenenbauman L, Anderson C, Rosenberg M, Howuar W, McDaniel W, Neimanis A, Ryan M E, Perez R. Sulconazole nitrate 1.0 percent cream: a comparison whit miconazole in the treatment of tinea pedis and tinea cruris/corporis. Cutis 1982; vol. 30: 105-107.
- <sup>82</sup> Odds F C. Personal opinion: Can antifungal sensibility test predict clinical treatment outcomes?. Rev Iberoam Micol 1997; 14: 83-84.
- <sup>83</sup> Campos R. La antropología médica en México. México: Antologías Universitarias, 1992; vol. 1: 14.

---

<sup>84</sup> Estrada-Lugo E. Op. Cit. 12: 31.

<sup>85</sup> Aguilar A, Camacho J R, Chino S, Jacquez P, López M E. Plantas Medicinales del herbario del IMSS. Cuadros básicos por aparatos y sistemas del cuerpo humano. IMSS, 1994.

<sup>86</sup> Campos R. Op. Cit. 83.