

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA**

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS PECUARIAS**



**“EFECTO ANTIMICOTICO DEL EXTRACTO DE TRES PLANTAS  
MEDICINALES CONTRA EL *Trichophyton* sp. y *Microsporum*  
sp. IN VITRO. EN TINGO MARIA”**

**Tesis**

Para optar el titulo de:

**INGENIERO ZOOTECNISTA**

**FRANK DIMAS, SANCHEZ PEZO**

**PROMOCIÓN 2009 - I**

**Tingo María - Perú**

**2010**

L72

S21

Sanchez Pezo, Frank D.

Efecto Antimicótico del Extracto de tres Plantas Medicinales Contra el *Trichophyton sp.* y *Microsporium sp.* In Vitro, en Tingo María. Tingo María 2010

40 h.; 5 cuadros; 2 fgrs., 28 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero Zootecnista) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Zootecnia.

TRICHOPHYTON SP. / MICROSPORIUM SP. / EFECTO ANTIMICÓTICO /  
PLANTAS MEDICINALES / TRATAMIENTO / IN VITRO / METODOLOGÍA  
/ TINGO MARÍA / RUPA RUPA / LEONCIO PRADO / HUÁNUCO / PERÚ.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
FACULTAD DE ZOOTECNIA**

Av. Universitaria Km. 2 Teléfono: (062) 561280  
TINGO MARÍA

-----  
"Año de la Consolidación Económica y Social del Perú"

## **ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 31 de mayo de 2010, a horas 6:00 p.m., para calificar la tesis titulada:

**EFFECTO ANTIMICÓTICO DEL EXTRACTO DE TRES PLANTAS MEDICINALES CONTRA EL *Trichophyton* sp, *Microsporum* sp, IN VITRO, EN TINGO MARIA**

Presentada por el bachiller **Frank Dimas SANCHEZ PEZO**; después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobada con el calificativo de **"MUY BUENO"**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el **TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título, de conformidad con lo establecido en el Artículo 95, inciso "i" del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 31 de mayo de 2010

Dr. DANIEL PAREDES LOPEZ  
Presidente



Ing. WAGNER VILLACORTA LOPEZ  
Miembro

Méd. Vet. JORGE TURPO CALCINA  
Miembro

Méd. Vet. LISANDRO TAFUR ZEVALLOS  
Miembro - Asesor

## DEDICATORIA

A Dios por el éxito y la satisfacción de esta investigación. Quien me regala los dones de la Sabiduría y el Entendimiento.

A mí madre Leovina Pezo Díaz, a mi padre Gibsón Sánchez Arce, quienes aún en la distancia siempre han estado conmigo brindando su amor, cariño y comprensión.

A mis hermanos: Mariela y Tercero Alejandro, quienes me acompañan y me brindan siempre su cariño. Y por compartir el espacio y los momentos significativos con mis padres.

## AGRADECIMIENTO

A mi alma mater, la Universidad Nacional Agraria de la Selva y la Facultad De Zootecnia.

A mis asesores de tesis: Med. Vet. Lizandro Tafur Zevallos y al Ing. Marco Antonio Rojas Paredes por sus valiosas contribuciones en mi formación profesional.

Doy infinitas gracias a la Ing. Nila Rivera Y Ibárcena por sus buenos consejos y apoyo durante la ejecución y redacción de la tesis.

A mis jurados: Med. Vet. Daniel Paredes, Med. Vet. Jorge Turpo y al Ing. Wagner Villacorta. Por el interés, motivación, apoyo y críticas necesarias para la realización de este trabajo.

Un agradecimiento especial a Luz Marlene Durand Chávez por su apoyo sincero durante la ejecución de la tesis.

Eterno agradecimiento a los docentes de la Facultad De Zootecnia por sus valiosas contribuciones en mi formación profesional.

De igual manera eterno agradecimiento a todos mis compañeros de estudios, de la misma forma a los técnicos de laboratorio: Félix Jara y Richar Sias.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Importancia de la investigación con productos naturales antifúngicos.	4
2.2. Agente etiológico de la dermatomicosis.....	4
2.3. Generalidades del clotrimazol.....	7
2.4. Características de plantas medicinales.....	9
2.4.1. Compuestos fitoquímicos de <i>Psidium guajava</i> .....	11
2.4.2. Compuestos fitoquímicos de la verbena ( <i>Verbena officinalis</i> )..	13
2.4.3. Compuestos fitoquímicos del matico. ( <i>Piper angustifolium</i> ).....	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1. Lugar de la investigación.....	18
3.2. Tipo de investigación.....	18
3.3. Metodología de estudio.....	19
3.3.1. Material vegetal.....	19
3.3.2. Obtención del extracto.....	19
3.3.3. Preparación de diluciones.....	20
3.3.4. Aislamiento de los hongos <i>Trichophyton sp</i> , <i>Microsporum sp</i> ..	20
3.3.5. Prueba de Sensibilidad de Pozos en agar .....	20

3.4. Variable independiente.....	21
3.5. Tratamientos.....	22
3.9. Croquis de distribución tratamiento.....	22
3.10. Variable dependiente.....	23
3.11. Análisis estadístico.....	23
IV. RESULTADOS.....	25
4.1. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el <i>Microsporium</i> .....	25
4.2. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el <i>Trichophyton sp.</i> .....	27
V. DISCUSIÓN .....	29
5.1. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el <i>Microsporium sp.</i> y <i>Trichophyton sp.</i> .....	29
VI. CONCLUSIÓN .....	34
VII. RECOMENDACIONES .....	35
VIII. ABSTRAC.....	36
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	38
. ANEXO .....	45

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página.
Cuadro 1. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el <i>Microsporum sp</i> .....	25
Cuadro 2. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas Medicinales, contra el <i>Trichophyton sp</i> .....	27
Cuadro 3. Porcentaje de inhibición del extracto de guayaba.....	46
Cuadro 4. Porcentaje de inhibición del extracto de verbena.....	46
Cuadro 5. Porcentaje de inhibición extracto de del matico.....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página.
Figura 1. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el <i>Microsporum sp</i> .....	26
Figura 2. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas Medicinales, contra el <i>Trichophyton sp</i> .....	28

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en la Facultad de Zootecnia, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, de Tingo María, departamento de Huánuco - Perú. Con el objetivo de evaluar el efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales (guayaba (*Psidium guajava* L), verbena (*Verbena officinalis*) y matico (*Piper angustifolium*), contra el *Trichophyton* sp. y *Microsporium* sp., in vitro, se utilizó los extractos etanólicos de cada uno de las plantas, a disoluciones de 10, 40, 70 y 100%; se realizó el frotis de inoculación: para las replicas sobre la superficie de agar Saboraud en 78 placas petri y en las pozas de 6 mm de diámetro se vertieron 100 µL los extractos, así también el Clotrimazol al 1% (control positivo) para ser incubados a 27°C; después de 48 horas se midió el diámetro en mm., los halos de inhibición del crecimiento del *Trichophyton* sp. y *Microsporium* sp. incluyendo el diámetro de las pozas. Los resultados indican una efectividad antimicótica de cada unos de los extractos contra el hongo *Microsporium* sp. La Verbena tuvo: 0.52, 0.63, 0.73 y 1.07 mm para 10, 40, 70 y 100% respectivamente; en este mismo orden de porcentaje el matico tuvo efectividad de 0.40, 0.45, 0.64 y 0.86; mientras que la guayaba tuvo 0.37, 0.42, 0.53. y 0.53 mm. La efectividad contra el hongo *Trichophyton* sp. del matico : 0.58, 0.71, 0.81 y 0.90 mm para 10,40, 70 y 100% respectivamente; en este mismo orden de porcentaje la verbena 0.53, 0.62, 0.66 y 0.75; mientras que la guayaba 0.53, 0.57, 0.66 y 0.71. La efectividad contra El *Trichophyton* sp. y *Microsporium* sp. fue a partir del 70% en la verbena y matico.

Palabras claves: Guayaba (*Psidium guajava* L), verbena (*Verbena officinalis*)  
matico (*Piper angustifolium*), extracto etanólico, efecto  
antimicótico, *Trichophyton* sp., *Microsporum* sp.

## I. INTRODUCCIÓN

Las plantas sirven a la humanidad como fuente curativa desde los comienzos de la historia. En las últimas décadas, la investigación científica dió a conocer numerosos compuestos que han probado ser indispensables en la medicina moderna, después de un período en que la industria farmacéutica se dedicó exclusivamente a la fabricación de fármacos sintéticos.

Los vegetales, como producto de su metabolismo secundario normal, son capaces de biosintetizar un elevado número de compuestos fenólicos, algunos de los cuales son indispensables para sus funciones fisiológicas y otros son de utilidad para defenderse ante situaciones de estrés. A estos compuestos se les atribuye las propiedades antimicóticas. Substancias que in Vitro demuestra su acción antifúngica al inhibir la síntesis del ergosterol en la pared celular micótica y lesionando directamente las membranas citoplasmáticas. (MARTINEZ *et.al.*, sa).

La dermatomicosis es, causada por diferentes tipos de hongos. Existe alta prevalencia de infección por micosis en cuyes, estos hongos parasitan la piel debido a que poseen enzimas especializadas en descomponer la queratina, proteína compleja de la cual se nutren, y se ven favorecidos por el

ambiente húmedo del trópico produciendo grandes pérdidas desde el punto de vista económico al productor por ocasionar un costo adicional de tratamiento de los animales, y por el largo tiempo de recuperación de éstos; los principales hongos involucrados en la dermatomicosis son: *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp.

Las plantas medicinales, guayaba (*Psidium guajava* L), verbena (*Verbena officinalis*) y matico (*Piper angustifolium* ) son usadas en el tratamiento de muchas enfermedades, entre ellas como antimicóticas; de esto surge la inquietud de saber ¿Cuál es el efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales , guayaba (*Psidium guajava* L), verbena (*Verbena officinalis*) y matico (*Piper angustifolium* ), contra el *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp., in-vitro? por el contenido de compuestos fenolicos de las plantas medicinales en estudio, el extracto de éstas muestran un alto grado de efectividad en el control de los hongos *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp.

Objetivo general:

- Evaluar el efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales (guayaba (*Psidium guajava* L), verbena (*Verbena officinalis*) y matico (*Piper angustifolium*), contra el *Trichophyton* sp. *Microsporum* sp. in vitro, en Tingo María.

**Objetivos específicos:**

- Comparar y determinar el efecto de las tres plantas medicinales contra el *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp.
- Determinar la concentración de los extractos de las plantas en estudio que muestre mayor efectividad contra *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Importancia de la investigación con productos naturales antifúngicos

En la actualidad, el tratamiento de la dermatofitosis se basa en el uso de drogas Antifúngicos tópicos y sistémicos. También, la mayoría de los fármacos utilizados en la terapia antifúngica, la administración sistémica, la causa de efectos secundarios en pacientes que causa trastornos gastrointestinales, reacciones cutáneas, leucopenia y hepatotoxicidad. Lesiones hepáticas más graves que, en general son irreversibles (ALVES 2007). Este mismo autor señala que debido a las drogas antifúngicas han motivado a la industria farmacéutica para hallar nuevas sustancias con potencial farmacológico de los microorganismos patógenos para el hombre, y en consecuencia ha aumentado el número de investigaciones con productos naturales, extractos de plantas y sustancias puras aislados de plantas con actividad antimicrobiana, especialmente contra los hongos.

### 2.2. Agente etiológico de la dermatomicosis

La mayor prevalencia de micosis se debe a los agentes *Microsporium canis* en un 84,4% y *Trichophyton mentagrophytes* en 46,6% de

acuerdo al estudio micológico, donde se tomaron muestras aleatorias de escamas epidérmicas de 12 conejos (*Oryctolagus cuniculus* L.) y 32 cobayos (*Cavia porcellus* L.). (MOYA, 2003).

MURILLO (2001) señala los hongos dermatofitos se desarrollan convencionalmente en el medio Saboureaud dextrosa, previa obtención de muestras de pelo y escamas, estas se inoculan en forma aséptica, incubándose a 27°C, aun pH de 5,6; la velocidad de crecimiento en que se desarrollan es relativamente lenta, en general, de 5 -10 días hasta 3 semanas. Los dermatofitos son moderadamente termotolerantes y crecen bien in vitro a 37°C, aquellos no patógenos no tienen esta capacidad; los geofílicos son moderadamente tolerantes a concentraciones altas de sales razón por la cual, tienen mayor desarrollo en restos de queratina desecados. Otros han adquirido resistencia a antimicóticos, especialmente a la griseofulvina (PEREZ, 2005).

LLEONART (2003) manifiesta los hongos dermatofitos producen sustancias tóxicas denominadas tricofitinas, por ello la vaina que rodea totalmente a los pelos se ve afectada tendiendo a caer al ser digerida la queratina presente en su estructura. PONTÓN (2008) manifiesta la pared celular de los hongos filamentosos está compuesta básicamente de polisacáridos entre ellos destacan las glicoproteínas, la quitina y el glucano la síntesis de estos componentes depende de un complejo de enzimas glucano sintetetasas y quitin sintasa.

En su pared celular los dermatofitos tienen macromoléculas unificadoras de esteroides; la progesterona y ciertos análogos tienen la capacidad de disminuir la velocidad de crecimiento de las colonias *in vitro*; estos receptores de la progesterona pueden estar asociados con la baja prevalencia de las enfermedades micóticas de la piel en las mujeres con respecto a los hombres. Los sideróforos como hidroxamatos tienen también esta capacidad por el secuestro del hierro del medio, elemento necesario para el desarrollo de los hongos (PEREZ, 2005).

Un componente vital de la membrana plasmática de los hongos es el ergosterol (compuesto lipídico), por interferir en el transporte de nutrientes y la síntesis de quitina, lo cual está relacionado con el crecimiento y proliferación del hongo, además sobre este compuesto actúa la mayoría de fármacos en la membrana fúngica (PASCUZZO, 2003).

MOYA, 2003. El *Trichophyton sp* es un hongo filamentoso que invade las capas superficiales queratinizadas de la piel, pelos y uñas, debido a que poseen en su pared celular un equipo enzimático especializado en descomponer la queratina, proteína compleja de la cual se nutren, así mismo MONSÓN y RODRÍGUEZ (2000) refiere que el *Trichophyton* se reproduce mediante micro y macroconidios estos son alargados y le dan un aspecto de colonias algodonosas, generalmente están adheridos lateralmente y directamente a las hifas (fila de células) constituidas de quitina. Este género se caracteriza por presentar con mayor frecuencia microconidias globosas,

piriformes, sésiles o pedunculadas, pueden salir solas o formando racimos a partir de la hifa. Las macroconidias son raras y cuando aparecen son de pared delgada, lisas y elongadas en forma de lápiz, fusiformes o cilíndricas (PEREZ, 2005).

El género *Microsporium* a diferencia del género *Trichophyton* presenta abundante cantidad de macroconidias de pared gruesa, rugosas, fusiformes, a veces con pequeñas prolongaciones en forma de espina (equinuladas); producen también microconidias que son sésiles, pedunculadas surgen solas o en racimos (PEREZ, 2005).

### 2.3. Generalidades del clotrimazol

El antimicótico ideal es aquel que reúne las siguientes características: especificidad frente a la célula fúngica, amplio espectro, ausencia de efectos secundarios, dosis mínimas efectivas y espaciadas, y económicamente accesible (SILVA, 2004). En farmacología, se entiende por dosis efectiva de un medicamento a la dosis mínima capaz de producir el efecto deseado de la droga en el 50% de la población (Goth, 1996 citado por GONZALES *et. al.*, 2008).

Los azoles inhiben la síntesis de ergosterol, un componente esencial de la membrana celular del hongo, por inhibición del enzima lanosterol 14-alfa-demetilasa, que depende del citocromo P450. (ZAMBRANO y

ZAMBRANO, 2000). El clotrimazol fue el primero de los imidazoles en ser comercializado. Estudios experimentales in vitro demostraron su actividad frente a levaduras del género *Candida*, hongos dermatofitos y dimórficos así como bacterias Gram+, algunas amebas, *Trichomonas* y *Toxoplasma*. Diversos trabajos confirman su efectividad en las dermatofitosis, *P. versicolor* y candidosis de tipo vaginal y orofaríngeas, siendo útil en la tinea capitis y fávica. Su actividad es superior a la que muestra la griseofulvina y nistatina frente a hongos filamentosos. A pesar de su excelente espectro de actividad y de acción, su administración por vía oral está descartada al provocar efectos adversos de importancia. (DE LA PEÑA, 2007).

ZAMBRANO y ZAMBRANO (2000) también menciona que el clotrimazol es un tritil imidazol clorado. In vitro inhibe la mayoría de las cepas de *Trichophyton*, *Epidermophyton* y *Microsporum*. Actúa frente a *Candida* y también inhibe algunas cepas de bacterias gram positivas. Tiene un amplio espectro y se utiliza para dermatofitosis superficiales, candidiasis cutáneas, orofaríngeas y vaginales y pitiriasis versicolor.

CARRILLO *et al.* (2004) manifiesta la superioridad antifúngica del clotrimazol, previo ensayo In Vitro realizado con 196 aislados de hongos dermatofitos y del género *Scopulariopsis*, por medio de un método de difusión demuestra tasas de sensibilidad In Vitro de 72% y 86% para la anfotericina B y para el Clotrimazol respectivamente.

#### 2.4. Características de plantas medicinales

Las plantas son una fuente invaluable de nuevas moléculas biológicamente activas. Ellas producen diversos metabolitos secundarios, muchos de los cuales presentan actividad antifúngica. Entre los compuestos más conocidos se encuentran: flavonoides, fenoles, glicósidos de fenoles, saponinas, etc. (DAVICINO. *et. al.*, 2007).

VÁSQUEZ *et. al.* (2002) determinó las propiedades antimicóticas in vitro de la Planta Natural Cimaruba glauca contra *M. gypseum*. Los resultados del experimento al utilizar la Cimaruba glauca contra las cepas *M. gypseum* se encontró una eficacia moderada del 41 %, a concentraciones del 20 % .La planta natural contiene químicamente taninos en el fruto, así como el compuesto de sesquiterpeniactonas que posee acción citotóxica. También compuestos alcaloides y flavonoides. A estos compuestos principalmente Sesquiterpeniactonas y Flavonoides se les atribuye las propiedades antimicóticas, así como antiinflamatorias entre otros.

El estudio de *Plantago major* (llantén) para el tratamiento de micosis en la piel, se utiliza en general toda la planta, las hojas y las semillas son más importantes, las que han sido estudiadas químicamente de forma más amplia, en su composición química del Llantén específicamente se han encontrado varios compuestos tales como ácido benzoico, ácido cafeico, ácido chlorogénico, ácido cinámico, ácido ferulico, ácido geniposídico, ácido salicílico.

Substancias que in Vitro han demostrado su acción antifúngica al inhibir la síntesis del ergosterol en la pared celular micótica, lesionando directamente las membranas citoplasmáticas y actuando en otros casos como agentes queratolíticos, por esto el presente estudio determinara el efecto antifungico clínicamente y en estudios posteriores su determinación in Vitro. (RAMIREZ. *et. al. sa*).

El ácido cafeico y el cinámico son representantes de los grupos fenolicos y Polifenoles, ambos con acción antimicrobiana, antiviral y antifúngica. Se considera que la acción de los fenoles y polifenoles contra los microorganismos se debe a la inhibición enzimática posiblemente por acción sobre los grupos sulfhidrilos de sus aminoácidos de cisteína o por medio de reacciones más inespecíficas con proteínas bacterianas. Los compuestos fenólicos que poseen una cadena lateral a nivel de C3 en un bajo nivel de oxidación y que no contienen oxígeno, son clasificados como aceites esenciales y a veces se citan como agentes antimicrobianos bacteriostáticos contra hongos y bacterias (ARAUJO y SALAS, 2008).

En este estudio, extractos de 10 plantas utilizadas en medicina popular en Argentina fueron ensayadas para estudiar la actividad antifúngica *in vitro* contra 4 cepas de hongos. De todas las plantas estudiadas, solo 4 mostraron actividad antifúngica (*Larrea divaricata* Cav, *Gnaphalium gaudichaudianum* D.C, *Baccharis trimera* Less y *Schinus terebenthifolius*.); es posible que la actividad sobre los microorganismos no se deba a la acción de

un único principio activo sino al efecto sinérgico de varios de ellos que en la planta se encuentren en proporción minoritaria. (DAVICINO, 2007).

La actividad antimicótica de diferentes extractos de *Sapindus saponaria* al 60 y 90% (con contenido apreciable de Hederagenina) fue probada in Vitro e in Vivo en ratones infectados con *Candida albicans*, el extracto al 60% (dosis de 0,6 mg/mL) por 10 días, tuvo una actividad antimicótica significativa, con el extracto del 90% y saponinas precursoras de la hederagenina fue posible curar totalmente los ratones infectados con el hongo, después de un tratamiento de 15 días (Bernard *et al.*, 1981 citado por BENCH, 2008).

#### 2.4.1. Compuestos fitoquímicos de *Psidium guajava*

El análisis fitoquímico preliminar reveló la presencia de taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, y saponinas; los cuales podrían explicar la actividad biológica de la planta. La quercetina y aceites esenciales (cariofileno, etc.), tienen propiedades candidacidas y fungicidas. (HUAMANÍ y RUIZ, 2005).

De la misma forma en otro estudio se demostró los compuestos químicos aislados de la hoja de guayaba, como son: un triterpenoide pentacíclico, el ácido guajanoico, así como,  $\beta$ -sitosterol, uvaol, ácido oleanólico y ácido ursólico. Así mismo, Taninos (hojas 9 a 10%, corteza 12 al 30%).

polifenoles, carotenoides, vitamina C, compuestos volátiles y aromáticos, terpenos, glicosidos esteroidales, antraquinonas, flavonoides, quercitinas. el ácido psidiolico tiene actividad antiprotozoarica. La actividad antibacteriana se atribuye a los flavonoides (ECHEMENDÍA y MORÓN, 2004).

En varias especies los flavonoides varían sustancialmente entre genotipos, cambios estacionales, edades y daños de la hoja y sitios de ubicación, aumentando conforme avanza el desarrollo de la hoja. Las diferentes fuentes de Flavonoides son de origen vegetal y se encuentran principalmente en las hojas en guayaba, también están presentes en partes anatómicas como corteza, yemas florales (VARGAS, 2006).

El extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) mostró actividad contra *Candida albicans* ATCC 10231, con un halo de inhibición de 23 mm y una CMI de 250 µg/mL, y un halo de inhibición de 16 mm para *Candida albicans* cepa clínica. En este género el extracto metanólico de la pulpa de la fruta de *Psidium sartorianum* mostró actividad significativa contra especies de *Trichophyton*, mientras que las especies de *Candida* no fueron sensibles. (HUAMANÍ y RUIZ, 2005).

Los extractos de las hojas se usan para controlar a los gusanos (*Heliothis virescens*) de las yemas del tabaco, contiene un compuesto que inhibe a *Xanthosoma campestri*, patógeno bacteriano que causa necrosamiento de la raíz de la col. Medicinal (hoja, flor, corteza, fruto, raíz), La

planta tiene las siguientes propiedades y acciones: febrífuga, antisecretoria, antimicrobial, bactericida, cicatrizante, emenagoga, hipoglicémica, laxativa, nutritiva, espasmolítica (RODRÍGUEZ *et. al.*, 1991).

#### 2.4.2. Compuestos fitoquímicos de la verbena (*Verbena officinalis*)

Los análisis fitoquímico de la *Verbena officinalis*, se aprecia que presenta abundancia de los metabolitos secundarios correspondientes a los grupos de: fenoles y taninos, de mediana cantidad los esteroides, flavonoides, antraquinonas, lactonas sesquiterpénicas, y bajas cantidades de glicósidos cardiotónicos. Se puede concluir que los extractos de verbena pueden ser utilizados como insecticidas repelentes en bodegas y estibas donde se almacenan los granos, evitando que tengan contacto directo con estas materias primas. Además pueden ser utilizadas como antibacteriales y antifúngico (ARANGO y VÁSQUEZ 2009).

Los taninos condensados, también conocidos como procianidinas, son polímeros aromáticos multihidroxilados basados en el monómero flavano de 15 carbonos. Estos polifenoles se forman principalmente en la corteza, madera, frutos y semillas de una gran variedad de especies vegetales. Los taninos hidrolizables son polifenoles vegetales constituidos por complejas combinaciones de ácido gálico y glucosa, compuestos que se obtienen cuando se les somete a una hidrólisis. Están presentes en un mayor

número de especies del reino vegetal y se han reportado en prácticamente todas las partes de la planta. (ARANGO y VÁSQUEZ 2009).

Al igual que los metabolitos secundarios, no existen evidencias de que los taninos tengan una función establecida en los procesos fisiológicos de las plantas. Sin embargo, su papel como agente alelopático es bien reconocido. Los taninos reaccionan rápidamente con otras biomoléculas formando productos complejos con proteínas (estructurales y catalíticas), almidón, sustancias pécticas y celulosas. Así se tiene que el ataque enzimático derivado del metabolismo de hongos o bacterias hospedados en la madera puede ser inactivado o disminuido sustancialmente ante la presencia de taninos. (ARANGO y VÁSQUEZ 2009).

#### 2.4.3. Compuestos fitoquímicos del matico. (*Piper angustifolium*)

El *Piper angustifolium* R & P o *Piper aduncum*, o *Piper elongatum*, es una planta conocida como: matico; cordoncillo, moho-moho, hierba de soldado. Sus hojas y ramas contienen aceites esenciales, ácido artánico, resinas, sustancias amargas (maticina), taninos, alcaloides, saponinas, flavonoides triterpenoides. Los taninos contribuyen a su actividad cicatrizante; los flavonoides tienen propiedades antioxidantes y protectoras de la membrana celular ; En Haití las hojas de *Piper aduncum*, en forma de cocimiento, son utilizadas para los golpes, así como también para dolores abdominales; en el Perú es utilizada para infecciones e inflamaciones. (ARROYO *et. al.*, 2003).

El análisis fitoquímico preliminar revela la presencia de taninos y compuestos fenólicos entre sus principales constituyentes, los cuales pueden ser los responsables de la actividad biológica. En este género se han reportado los siguientes compuestos antifúngicos : hidroquinonas preniladas y sakuretina, con actividades comparables a los controles (nistatina y miconazol); canfor y canfeno principales constituyentes del aceite esencial de *Piper angustifolium* ; numerosas amidas ; derivados del ácido benzoico , neolignanós y derivados ciclopentanodionas (coruscanona A y B) (HUAMANÍ y RUIZ, 2005).

De doce extractos investigados, seis presentaron actividad antifúngica consistente con un diámetro de halos de inhibición  $\geq 18$ mm (Prueba de Difusión en agar) donde el extracto etanólico de las hojas de *Piper spp.* (matico) mostró actividad contra *Candida albicans* ATCC 10231, con un halo de inhibición de 19 mm y una CMI de 500  $\mu$ g/mL, y un halo de inhibición de 17 mm para *Candida albicans* cepa clínica; y además tiene una débil actividad contra el hongo filamentoso *Aspergillus niger* ATCC 16404, con un halo de inhibición de 13 mm. Es la primera vez que se reporta esta actividad en esta especie, pero existen numerosas especies de este género que tienen actividad antifúngica entre ellas tenemos *Piper crassinervium* Kunth, *Piper lanceaefolium* HBK, *Piper angustifolium*, *Piper guineense*, *Piper tuberculatum*, *Piper arboreum*, *Piper hispidum*, *Piper fulvescens*, y *Piper coruscans*. (68, 70-77, 109) (HUAMANÍ y RUIZ, 2005).

El aceite esencial de *Piper sp.* fue probado contra el hongo *Clinipellis pernicioso*, conocido como escoba de "brujas" responsables de los ataques de patógenos de cacao. La concentración de 50 a 100 ppm inhibe el crecimiento del 100% y la germinación de este hongo (Bastos, 1997 citado por SOUSA *et al* 2008). En un estudio similar el aceite esencial de *Piper sp.* excelente rendimiento 2,5 a 3,5% y es rico en dillapiol. Este compuesto, con una pureza del 99,0%. fue probado y demostró ser responsable de la actividad fungicida, larvicida, insecticida y molusquicida. (Almeida, 2004 citado por SOUSA *et. al.*, 2008).

En una investigación, se probó el aceite esencial de *piper angustifolium* para comprobar su efectos fungicida sobre *Candida albicans* en prótesis dentales. El efecto fue probado a través de un número de colonias formadoras de *Candida albicans*, antes y luego de 5 y 15 días de tratamiento. Al inicio de la investigación se encontró 29 colonias aisladas a nivel del paladar y 318 colonias obtenidas en la prótesis. A los 5 días después de haber aplicado el aceite se encontró 14 colonias a nivel de la mucosa y 54 colonias en la prótesis a los 15 después del tratamiento se observó que el número de colonias de la mucosa del paladar se redujo notablemente hallándose en la mayoría casos de ausencia de colonias de *Candida albicans*. Lo cual indica que el uso de aceites esenciales durante 15 días constituye una alternativa en el tratamiento de candidiasis sub protésica (Vásquez 2003 citado por CALIXTO 2006).

Varios investigadores estudiaron la actividad frente al dermatofito *Trichophyton mentagrophytes* de diferentes aceites esenciales, entre ellos una especie del género Piper (*Piper aduncum*) y observaron una actividad antidermatofítica bien definida de dicha especie vegetal, (Habtemariam S, 1992 citado por HERNANDEZ, *et.al.*, 2003).

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Lugar y fecha de ejecución del trabajo

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de sanidad animal de la facultad de Zootecnia, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), que se encuentra ubicada la ciudad de Tingo María, en la región Huánuco, provincia de Leoncio prado y distrito de Rupa Rupa, con altitud de 660 msnm, a 09° 17' 03" de latitud sur y longitud oeste de 76° 01' 07". La topografía de la ciudad es ligeramente accidentada, ecológicamente considerada como bosque pre-montano tropical muy húmedo, en promedio presenta una temperatura media anual de 24.5°C, con humedad relativa de 80.5%, y precipitación pluvial media anual de 3220 mm, distribuidos con mayor intensidad en los meses de noviembre a marzo. (UNAS, 2005).

El presente trabajo de investigación se realizó durante 3 meses; octubre, noviembre y diciembre del 2009.

#### 3.2. Tipo de investigación

- Investigación experimental.

### 3.3. Metodología de estudio:

#### 3.3.1. Material vegetal.

De las de hojas frescas de cada especie de la planta (guayaba-*Psidium guajava* L, verbena-*Verbena officinalis* y matico-*Piper angustifolium*), se utilizó 500 gr, fisiológicamente maduras; las hojas fueron seleccionadas de la porción de la rama que se encuentra más cercana al tallo, con: la coloración verde oscura, sanidad fisiológica e integridad de la hoja, y de procedencia de los alrededores de la ciudad de Tingo María.

#### 3.3.2. Obtención del extracto.

Las hojas de cada una de las plantas medicinales fueron secadas en una estufa a 55°C por un periodo de 48 horas, luego se pesaron 100gr de hojas secas, las cuales fueron maceradas en 500 ml de etanol puro de 96° en un frasco con sello hermético, por un periodo de 15 días, después de transcurrido el tiempo, la solución obtenida se paso por un filtro cuantitativo y se llevó a baño maría por un lapso de tres horas, obteniendo así los extractos. (guayaba, verbena, matico).

### 3.3.3. Preparación de diluciones.

Cada uno de los extractos fueron diluidas con agua destilada a diferentes concentraciones de 10%, 40%, 70% y 100% en vasos de 25 ml.

### 3.3.4. Aislamiento de los hongos *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp.

La identificación de los Hongos se realizó en el laboratorio de Microbiología con método microcultivos para caracterizar *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp., luego se realizó el repicaje mediante el método de resembrado, lográndose aislar la colonia puras.

### 3.3.5. Prueba de Sensibilidad de Pozos en agar.

A partir de las cepas aisladas (*Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp.) se realizó el frotis de inoculación, para las replicas, sobre la superficie de agar Saboraud en 78 placas petri, (36 placas para cada especie de hongo y 6 para el clotrimazol). En cada una de las placas inoculadas, con la ayuda de un sacabocado esterilizado de 6mm de diámetro, se formaron las pozas y en cada uno de ellos se vertieron 100  $\mu$ L de los extractos de hojas de guayaba, verbena y matico, así también el Clotrimazol al 1% (control positivo).

Las placas se incubaron a 27°C, después de 48 horas se midió en milímetros el diámetro de los halos de inhibición del crecimiento del

*Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp. incluyendo el diámetro de las pozas. El cálculo de efecto inhibitorio relativo respecto al control positivo, se realizó de la siguiente manera: siguiendo la fórmula de (ALVAREZ *et. al.*; 2005).

$$\% \text{ efecto de inhibición} = \frac{\text{Diámetro halo inhibitorio del extracto}}{\text{Diámetro halo inhibitorio del control positivo}} \times 100 \%$$

Los datos porcentuales se transformaron con el método Angular u Arco seno, para su posterior análisis.

#### 3.4. Variable independiente

- Extracto etanólico de las plantas medicinales: guayaba (*Psidium guajava* L), verbena (*Verbena officinalis*) y matico (*Piper angustifolium* ) y el clotrimazol al 1%
- Dilución de los extractos (10%, 40%, 70%,100%)

## 3.5. Tratamientos

TRATAMIENTOS											
Extracto etanólico de guayaba			Extracto etanólico de verbena			Extracto etanólico de matico			Clotrimazol		
EEG	10%	T	EEV	10%	T	EEM	10%	T	C 1%	T	
EEG	10%	M	EEV	10%	M	EEM	10%	M	C 1%	M	
EEG	40%	T	EEV	40%	T	EEM	40%	T			
EEG	40%	M	EEV	40%	M	EEM	40%	M			
EEG	70%	T	EEV	70%	T	EEM	70%	T			
EEG	70%	M	EEV	70%	M	EEM	70%	M			
EG	100%	T	EEV	100%	T	EEM	100%	T			
EEG	100%	M	EEV	100%	M	EEM	100%	M			

EEG= extracto etanolico guayaba, EEM= extracto etanolico matico, EEV= extracto etanolico verbena, T= *Trichophyton sp.*, M= *Microsporium sp.*

## 3.6. Croquis de distribución de tratamiento.

<i>Trichophyton sp.</i>			
EEG 10%	EEV 10%	EEM 10%	Clotrimazol 1%
R1	R1	R1	R1
R2	R2	R2	R2
R3	R3	R3	R3
EEG 40%	EEV 40%	EEM 40%	
R1	R1	R1	
R2	R2	R2	
R3	R3	R3	
EEG 70%	EEV 70%	EEM 70%	
R1	R1	R1	
R2	R2	R2	
R3	R3	R3	
EEG 100%	EEV 100%	EEM 100%	
R1	R1	R1	
R2	R2	R2	
R3	R3	R3	

<i>Microsporium sp.</i>			
EEG 10%	EEV 10%	EEM 10%	Clotrimazol 1%
R1	R1	R1	R1
R2	R2	R2	R2
R3	R3	R3	R3
EEG 40%	EEV 40%	EEM 40%	
R1	R1	R1	
R2	R2	R2	
R3	R3	R3	
EEG 70%	EEV 70%	EEM 70%	
R1	R1	R1	
R2	R2	R2	
R3	R3	R3	
EEG 100%	EEV 100%	EEM 100%	
R1	R1	R1	
R2	R2	R2	
R3	R3	R3	

EEG = Extracto etanólico guayaba, EEV= Extracto etanólico verbena EEM = Extracto etanólico matico

### 3.7. Variables dependientes.

- Porcentaje de inhibición

### 3.8. Análisis estadístico

La efectividad antimicótica del extracto, verbena, matico y guayaba contra *Trichophyton sp.* y *Microsporium sp.*, se determinó utilizando el diseño completamente al azar. Cada unidad experimental está compuesta por 1 cultivo en placa Petri y tres repeticiones de cada uno. Para esto se utilizó el sistema de análisis estadístico SAS (SAS, 1998); el modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$y_{ij}$  = Efectividad antimicótica sobre j-ésima cepa hongo, en función a la aplicación de la i-ésima concentración de las plantas

$\mu$  = Media general

$T_i$  = Efecto antimicótico de la i-ésima concentración de las plantas frente a la cepa hongo.

$\varepsilon_{ij}$  = Error experimental

La prueba de Duncan se utilizó para evaluar la significan-  
diferencias entre los grupos.

#### IV. RESULTADOS

##### 4.1. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el *Microsporum* sp.

Cuadro 1. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el *Microsporum* sp.(%).

<i>MICROSPORUM</i> sp				
TRATAMIENTO	DILUCIONES			
	10%	40%	70%	100%
CONTROL(Clotrimazol)	1.57 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>
VERBENA	0.52 <sup>b</sup>	0.63 <sup>b</sup>	0.73 <sup>b</sup>	1.07 <sup>b</sup>
MATICO	0.40 <sup>b</sup>	0.45 <sup>c</sup>	0.64 <sup>b</sup>	0.86 <sup>b</sup>
GUAYABA	0.37 <sup>b</sup>	0.42 <sup>c</sup>	0.53 <sup>b</sup>	0.53 <sup>c</sup>

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p < 0,01$ ).

En el cuadro 1 se observa la superioridad del tratamiento control frente a los tratamientos de extractos de verbena, matico, guayaba la diferencia estadística significativas ( $p < 0,01$ ) frente a los tratamientos en estudio es porque el clotrimazol es un antimicótico específico contra dermatofitos. En la dilución del 100% la efectividad de verbena y matico son estadísticamente iguales y la efectividad de guayaba es estadísticamente inferior a ambos tratamiento. se

observa que el extracto de verbena muestra efectividad antimicótica a partir del 40% y matico es efectiva a partir del 70%, mientras que el extracto de guayaba muestra efectividad mínima.

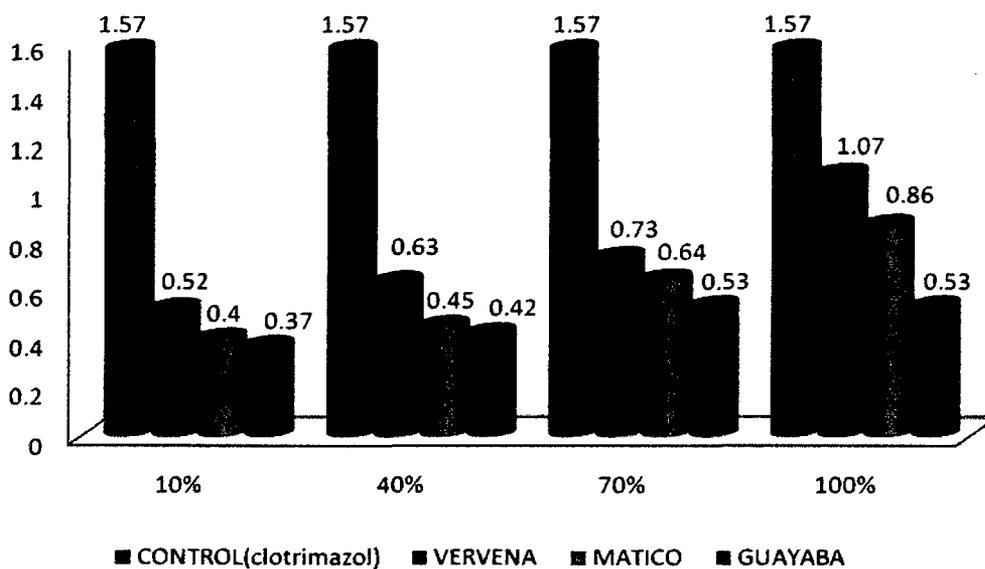


Figura. 1. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el *Microsporium* sp. (%).

4.2. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el *Trichophyton sp.*

Cuadro 2. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el *Trichophyton sp.* (%).

<i>TRICHOPHYTON sp.</i>				
TRATAMIENTO	DILUCIONES			
	10%	40%	70%	100%
CONTROL(clotrimazol)	1.57 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>
MATICO	0.58 <sup>b</sup>	0.71 <sup>b</sup>	0.81 <sup>b</sup>	0.90 <sup>b</sup>
VERBENA	0.53 <sup>c</sup>	0.62 <sup>c</sup>	0.66 <sup>c</sup>	0.75 <sup>c</sup>
GUAYABA	0.53 <sup>c</sup>	0.57 <sup>c</sup>	0.66 <sup>c</sup>	0.71 <sup>c</sup>

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p < 0,01$ )

El Cuadro 2 muestra la efectividad superior del tratamiento control frente a los otros tratamientos ( $p < 0,01$ ); frente a los tratamientos también se puede observar que el extracto de matico al 70% muestra efectividad superior frente a verbena y guayaba. La efectividad de los extractos de las plantas medicinales contra los hongos dermatofitos pueden estar influenciados por los diferentes metabolitos secundario de las plantas y la diferencia que se observa en la efectividad de cada planta contra cada hongo dermatofito se debe a que entre plantas existe compuestos fitoquímicos diferentes que pueden actuar en formas distinta contra cada hongo.

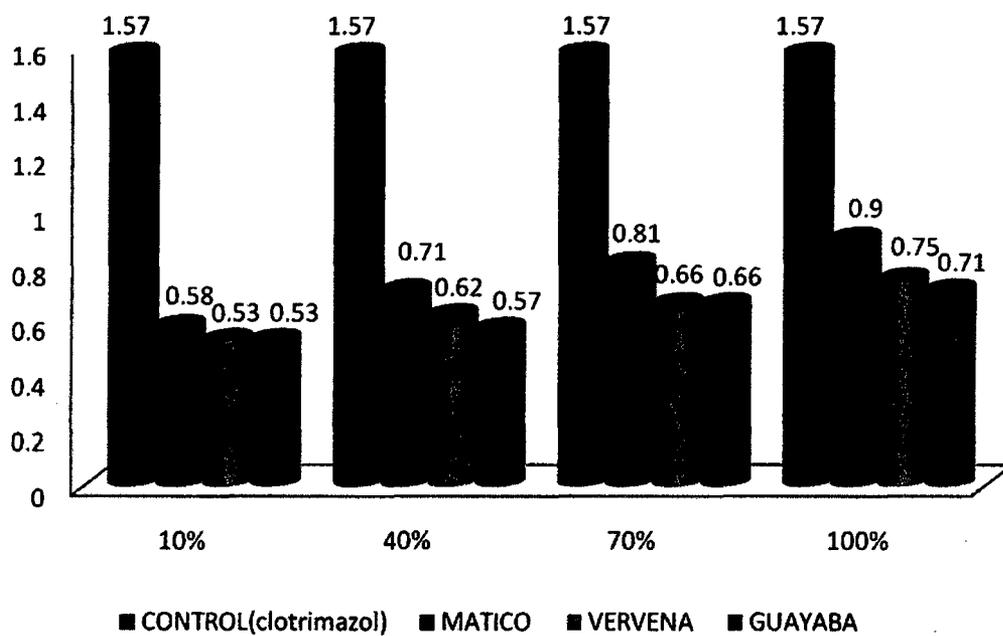


Figura. 2 Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el *Trichophyton sp.* (%).

## V. DISCUSIÓN

### 5.1 Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales, contra el *Microsporium* sp. y *Trichophyton* sp.

Según el cuadro 1, la efectividad del clotrimazol, comparado con los extracto de verbena (*Verbena officinalis*), matico (*Piper angustifolium*) y guayaba (*Psidium guajava* L) ( $p < 0,01$ ). Estos resultados obtenidos concuerdan con (PEÑA, 2007 y CARRILLO *et. al.*, 2004) quienes mencionan, que esta superioridad se debe a que el clotrimazol es un producto químico específico frente levaduras, hongos dermatofitos, bacterias gran positivo, por lo que muestra actividad superior a griseofulvina, nistatina y anfotericina B.

ZAMBRANO y ZAMBRANO (2000) y PASCUZZO (2003), atribuyen la superioridad del clotrimazol por ser un derivado de los Azoles, tienen la propiedad de inhibir la síntesis de ergosterol, un componente esencial de la membrana celular del hongo; y por inhibición de la enzima lanosterol 14-alfa-demetilasa, que depende del citocromo P450; Por lo que inhibe las cepas de *Trichophyton* sp. y *Microsporium* sp.

La actividad antifúngica de, los extractos de *Verbena officinalis*, *Piper angustifolium* y *Psidium guajava* L. se atribuyen a los metabolitos secundarios que sintetizan compuestos fenolicos presentes en la plantas y le dan esta capacidad, así como a los taninos que se encuentran en mayor cantidad en la verbena (*Verbena officinalis*) que tienen la capacidad de reaccionar rápidamente con otras biomoléculas formando productos complejos con proteínas (estructurales y catalíticas), almidón, sustancias pépticas y celulosas inactivando o disminuyendo el metabolismo de los hongos (ARANGO Y VÁSQUEZ 2009)., (VÁSQUEZ *et. al.* (2002). (DAVICINO *et. al.*, 2007).

La actividad antifúngica de los extractos de las tres plantas estudiadas se debe a los diferentes metabolitos secundarios que cada uno de ellos es capaz de sintetizar como los compuestos fenolicos, saponinas, taninos, flavonoides y aceites esenciales tal como lo mencionan (HUAMANÍ y RUIZ, 2005), (ARROYO *et. al.*, 2003), (ARANGO y VÁSQUEZ, 2009), (ECHEMENDÍA y MORÓN, 2004) y (VÁSQUEZ *et. al.*, (2002). Así mismo DAVICINO, (2007), (RAMIREZ. *et. al.*, sa). Sostienen que es posible que la actividad sobre los microorganismos no se deba a la acción de un único principio activo sino al efecto sinérgico de varios de ellos que en la planta se encuentren en proporción minoritaria.

Lo mencionado en el párrafo anterior es demostrado por RAMIREZ. *et. al.*, (sa) en un estudio de composición química del Llantén específicamente se han encontrado varios compuestos tales como ácido benzoico, ácido

cafeico, ácido chlorogenico, ácido cinamico, ácido ferulico, ácido geniposidico, ácido salicílico. Substancias que in Vitro han demostrado su acción antifungica al inhibir la síntesis del ergosterol en la pared celular micotica, lesionando directamente las membranas citoplasmáticas. Estos son representantes de los grupos fenolicos y Polifenoles que vienen a ser productos de los metabolitos secundarios en las plantas tal como lo menciona (ARAUJO y SALAS *et.al.*, 2008). Así como también los taninos son productos de los metabolitos secundarios en las plantas; que inactiva o disminuye sustancialmente el ataque enzimático derivado del metabolismo de hongos o bacterias hospedados. (ARANGO y VÁSQUEZ, 2009).

En el cuadro 1, se observó que el extracto de *Verbena officinalis* mostro efecto superior frente al *Microsporium* sp.; y también mostro efectividad aceptable contra *Trichophyton* sp., como se observa en cuadro 2 debido a que la verbena tiene abundante compuestos de: fenoles y taninos que le dan la propiedad antimicótica tal como lo menciona (ARANGO y VÁSQUEZ, 2009). Este mismo autor realizó el análisis fitoquimico de la verbena (*Verbena officinalis*), concluyendo que los extractos de verbena pueden ser utilizados como insecticidas repelentes en bodegas donde se almacenan los granos, evitando que tengan contacto directo con estas materias primas. Además pueden ser utilizadas como antibacteriales y anitfúngicos.

En el cuadro 2 se observa que el extracto de matico (*Piper angustifolium*) tiene mayor efectividad frente al hongo *Trichophyton* sp., y también mostro efectividad aceptable contra el *microsporum* sp., tal como se muestra en el cuadro 1, esto se debe a que en este genero se han reportado compuestos antifungicos como hidroquinonas preniladas y sakuretina, con actividades comparables a los controles (nistatina y miconazol); canfor y canfeno principales constituyentes del aceite esencial de *Piper angustifolium* ; (HUAMANÍ y RUIZ, 2005).

Así mismo, Almeida, 2004 citado por SOUSA *et al* 2008 y Habtemariam S, 1992 citado por HERNANDEZ, *et.al.* 2003 mencionan que el aceite esencial de *Piper*. es rico en dillapiol; este compuesto, con una pureza del 99,0% fue probado y demostró ser responsable de la actividad fungicida, larvicida, insecticida y molusquicida. La evaluación de los diferentes aceites esenciales, entre ellos una especie del genero *Piper* (*Piper aduncum*) frente al dermatofito *Trichophyton mentagrophytes* mostro una actividad antidermatofítica bien definida.

El extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) mostro poca actividad contra *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp. Estos resultados no concuerdan con los hallados por HUAMANÍ y REYNALDO (2005) quienes usaron en el extracto metanólico de la pulpa de la fruta del mismo genero (*Psidium* sp), el que mostro actividad significativa contra especies de *Trichophyton*, así como el análisis fitoquímico que le dan las propiedades

candidadas y fungicida. La poca efectividad se debe a sus composición química de las hojas que resultan ser efectivas en bacterias tal como lo menciona (ECHEMENDÍA y MORÓN, 2004).

Como se puede observar en el cuadro 1 y 2 de porcentaje de dilución, el 100% muestra mejores resultados; esto se debe a que los compuestos químicos de las planta están en sus concentraciones puras; comparados cuando las concentraciones fueron disminuidas, es decir, que a medida que se baja la concentración baja la efectividad esto concuerda con un trabajo realizado por (Bernard *et al.*, 1981 citado por BENCH, 2008). Quien realizó investigación en la actividad antimicótica de diferentes extractos de *Sapindus saponaria* al 60 y 90%, donde el extracto al 60% (dosis de 0,6 mg/mL), tuvo una actividad antimicótica significativa, con el extracto del 90% se obtuvo mejores resultados.

En los resultados observados en el cuadro 1 y 2 se consideró efectividad aceptable a más de 40 % de dilución, en relación a tratamiento control lo que concuerda con Goth, 1996 citado por GONZALES *et.al.*, (2008). En farmacología, se entiende por dosis efectiva de un medicamento a la dosis mínima capaz de producir el efecto deseado de la droga en el 50% de la población.

## VI. CONCLUSIONES

El extracto de tres plantas medicinales, *Psidium guajava* L, *Verbena officinalis* y *Piper angustifolium* muestra efectividad antimicótico contra el *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp., in vitro, en la ciudad de Tingo María.

El extracto etanólico de verbena y matico mostraron ser mas efectivos (1.07 y 0.90) respectivamente, contra los hongos dermatofitos, con una efectividad antimicótico mayor al 50%, observándose que el extracto de guayaba presenta una efectividad mínima contra a estos hongos.

El valor de dilución adecuada del extracto de tres plantas medicinales, para inhibición del *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp. fue a partir del 70%.

## **VII. RECOMENDACIONES**

**Aplicar los resultados del presente estudio en una investigación in vivo en las diferentes especies de crianza doméstica.**

**Realizar trabajos similares con otras especies de guayaba, verbena y matico ó de los que más sobresalieron en la presente investigación.**

## VIII. ABSTRACT

### ANTIFUNGAL EFFECT OF EXTRACT OF THREE MEDICINAL PLANTS AGAINST *Trichophyton sp.* AND *Microsporium sp.* IN VITRO, IN TINGO MARIA

This research work was conducted at the Faculty of Animal Science of the National Agrarian Forestry University, Tingo Maria, Huánuco-Peru. In order to evaluate the antifungal effect of extracts of three medicinal plants (*Psidium guajava L.*), (*Verbena officinalis*), and (*Piper angustifolium*) against *Trichophyton sp.* and *Microsporium sp.* In vitro, ethanol extracts of each plant, to solutions of 10, 40, 70 and 100 % was used for inoculation was made, to repetitions on the surface of agar Sabouraud in 78 petri dishes and in pools of 6 mm in diameter poured 100 ml extracts, also clotrimazole 1% as positive control was incubated at 27°C, after 48 hours, diameter in mm., haloes of growth inhibition of *Trichophyton sp.* and *Microsporium sp.* including the diameter of the pools were measured. The results indicate an antifungal effectiveness of each of the extracts against the fungi *Microsporium sp.* *Verbena officinalis* was 0.52, 0.63, 0.73 and 1.07 mm for 10, 40, 70 and 100% respectively in the same order *Piper angustifolium* effectiveness, was 0.40, 0.45, 0.64 and 0.86, while the *Psidium guajava L.* was 0.37, 0.42, 0.53 and 0.53 mm. the effectiveness against the fungus *Trichophyton sp.* *Piper angustifolium*:

0.58, 0.71, 0.81 and 0.90 mm for 10, 40, 70 and 100% respectively in the same order *Verbena officinalis* effectiveness, was 0.53, 0.62, 0.66 and 0.75; while the *Psidium guajava L.* was 0.53, 0.57, 0.66 and 0.71. the effectiveness against *Trichophyton sp.* and *Microsporum sp.*, were from 70% solution to more *Verbena officinalis* and *Piper angustifolium*.

**Key words:** guayaba (*Psidium guajava L* ), verbena (*Verbena officinalis*), matico (*Piper angustifolium*), ethanol extract, antifugal effect, *Trichophyton sp.*, *Microsporum sp.*

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- ÁLVAREZ, M., ISAZA, G., ACOSTA, S. y YEPES, A., 2005. Actividad antimicótica de *Phenax rugosus* (lam) Pers y *baccharis trinervis* (sw) wedd. Rev. Bio Salud. Caldas. 38 – 45 p. [En línea]: BIO SALUD, (<http://biosalud.ucaldas.edu.co>. Documento, 8 Oct. 2009).
- ALVES, D., 2007. Evaluación del potencial de antifúngicos, Y citotóxicos Antioxidante de Extractos Jacaranda decurrens Cham. (Carobinha). Tesis de Posgrado Biotecnología de la Universidad Ribeirão Preto - UNAERP a [En línea] Atamjpharm ([www.latamjpharm.org/.../2/LAJOP\\_28\\_2\\_2\\_5\\_AAGO5356R7.pdf](http://www.latamjpharm.org/.../2/LAJOP_28_2_2_5_AAGO5356R7.pdf). Documento, 18 de Ene. 2010).
- ALZAMORA, B., TOBARU, L. HARO, D. CHAVÉZ, R y CHINGA, E., 1998. Ensayo clínico entre clotrimazol 1% Ketokonazol sistémico y Fluconazol sistémico en el tratamiento de la queratitis micótica. Rev. Peruana de Oftalmología. [En línea]: SISBIB, (<http://sisbib.unmsm.edu.pe>. Artículo, 8 Oct. 2009).

ARANGO, G. G y VÁSQUEZ, V. C., 2009. Efecto tóxico de *Verbena officinalis* (familia verbenaceae) en *Sitophilus granarius* (coleoptera: curculionidae) Revista Lasallista De Investigación - Vol. 5 No. 2, [En línea]: Lasallista ([http://www.lasallista.edu.co/fxcul/media/pdf/Revista/vol5n2/v5\\_n2\\_p074-83\\_Verbena.pdf](http://www.lasallista.edu.co/fxcul/media/pdf/Revista/vol5n2/v5_n2_p074-83_Verbena.pdf). Artículo, 10 de Ene. 2010).

ARAUJO, D. y SALAS, A., 2008. Actividad antimicrobiana de plantas Universidad Científica del Sur, [En línea]: Ucsur ([http://www.ucsur.edu.pe/documentos/cientifica\\_06.pdf](http://www.ucsur.edu.pe/documentos/cientifica_06.pdf). Artículo 18 de Ene. 2010).

ARROYO, J.; RÁEZ, J.; BONILLA, P., 2003. Efecto del jabón con *Piper angustifolium* r & p (matico) sobre la piel normal de conejos, [En línea]: UNMSM ([http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/folia/vol14\\_n2/efecto.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/folia/vol14_n2/efecto.htm), Documento, 10 de Ene. 2010).

BENCH. C., 2008. Extracción, purificación e identificación de saponinas presentes en la *Sapindus saponaria* L. Colombia. Universidad EAFIT sede Medellín. [En línea]: BENCH COLOMBIA, (<http://bdigital.eafit.edu.co/bdigital/>. Artículo, 28 Ene. 2009).

CARRILLO, A.; SANTOS, P.; DEL VALLE, O.; CASALS, J. y QUINDOS, G., 2004. Es activa la anfotericina B frente a hongos dermatofitos y *Scopulariopsis*. Rev. Espa. Quimioterap. Vol17 N°3: 244 – 249. [En

línea]: Sociedad Española de Quimioterapia, (<http://www.seq.es/seq>, artículo, 16 de Set. 2009).

CALIXTO, C., 2006. Planta medicinales utilizadas en odontología, tesis de literatura Odontológica, artículo de revisión [En línea] USMP (<http://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2006rv2/kiru3.pdf>.2006. Artículo, 10 de Ene.2010).

DAVICINO, R.; MATTAR, M.; CASALI, Y.; CORREA, S.; PETTENATI, E y MICALIZZI, B., 2007. Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina, Rev. Perú biol , [En línea]: Scielo.(<http://www.scielo.org.pe/scielo.articulo>, 10 de Ene. 2010).

DE LA PEÑA, LL., 2007. Antimicóticos tópicos, [En línea]: antimicóticostopicos, (<http://antimicoticostopicos.blogspot.com/>, Documento, 10 de Ene. 2010).

DIETÉTICA HERBOLARIO, 2009 .*Verbena officinalis* [En línea] .Casapia (<http://www.casapia.com/dietetica-herbolario/las-plantas-medicinales/verbena-verbena-officinalis-informacion.html>, boletín, 10 de Ene. 2010).

ECHEMENDÍA, C., MORÓN, J. 2004. Tintura de hojas de *Psidium guajava* L. en pacientes con diarrea aguda simple. Rev. Cubana plant med 2004;

9(3). [En línea]; SCIELO, (<http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v4n2/pla02299.pdf>, journals, 29 Set 2009).

GONZALES, C.; GUERRERO, G.; PEREZ, P.; SANCHEZ, F., 2008. Relación Dosis – Respuesta Cuantal, Universidad Nacional Autónoma de México [En línea]: SCRIBD, (<http://www.scribd.com/doc/16673330/Evaluacion-de-farmacos-Dosis-Respuesta-Cuantal>. Documento, 20 de Oct. 2009).

HERNANDEZ,D.; RODRÍGUEZ, J. ; GARCÍA , PINO, A., 2003. Actividad antidermatofítica in vitro de aceites esenciales ,Centro de investigación y desarrollo de medicamentos ,[En línea] Bvs.([http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol8\\_2\\_03/pla04203.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol8_2_03/pla04203.htm). Artículo, 10 de Ene.2010).

HUAMANÍ, A. y RUIZ, Q., 2005. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú [En línea]: Cybertesis, ([http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2005/huamani\\_am/html/sdx/huamani\\_am.html](http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2005/huamani_am/html/sdx/huamani_am.html)], Tesis, 10 de Ene. 2010).

LLEONART, F., 2003. Dermatomicosis. El Gazapo. Argentina. 23. [En línea]: ([www.elgazapo.com.ar](http://www.elgazapo.com.ar). Artículo, 30 Set. 2009).

MONZÓN, A. y RODRÍGUEZ, J., 2000. *Trichophyton tonsurans*. Unidad de Micología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud,

Madrid. [En línea]: SEIMC, (<http://www.seimc.org/control>. Artículo, 21 Ene. 2009).

MOYA, M., 2003. Importancia Del Diagnóstico De Las Dermatofitosis En Animales De Bioterios. Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel. Caracas, Venezuela. 0798-0477 [En línea]: SCIELO, (<http://www.scielo.org.ve>. Artículo, 24 Set. 2009).

MURILLO, P. 2001. Diagnóstico Laboratorial de las Dermatofitosis. Universidad Federal de Rio de Janeiro, Brasil. [En línea]: Colegio Microbiólogo, (<http://www.colegiomicrobiologoscr.org>. Documento, 9 de Oct. 2009).

PASCUZZO, C., 2003. Antimicóticos. Biblioteca de medicina UCLA. Venezuela. [En línea]: BIBMED, (<http://bibmed.ucla.edu.ve>. Documento, 9 Oct. 2009).

PEREZ, C., 2005. Aspectos actuales sobre las dermatofitosis y sus agentes etiológicos, Biosalud, Volumen 14, pgs 105 - 121[En línea]: Biosalud ([http://biosalud.ucaldas.edu.co/downloads/Revista%204\\_10.pdf](http://biosalud.ucaldas.edu.co/downloads/Revista%204_10.pdf). Documento. 10 de Ene.2010).

PONTÓN, J., 2008. La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. Rev Iberoam Micol. Vasco, 25: 78-82. [En línea]: REV IBEROAM MICOL, (<http://www.reviberoammicol.com>. Documento, 29 Ene. 2009).

RAMIREZ, A.; MARTINEZ, Z. ; ARROYO, M., sa. Uso del Plantago Major En El Tratamiento de Micosis en la Piel.Universidad Autónoma Metropolitana – Mexico [En línea]: <http://148.206.53.231/UAMI14012.pdf>. Documento ,18 de Ene.2010.

RODRÍGUEZ, G.; ALMAGUER, G.; VARGAS, T. y ESPINOZA, J., 1991. *Psidium guajava* L. Species Plantarum 1: 470. 1753. [En línea]; CONABIO ([http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info\\_especies/arboles/doctos/52-myrt3m.pdf](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/52-myrt3m.pdf). Documento, 28 abril 2008).

SILVA, M., 2004. Antifúngico del futuro. Colegio Ibero Latino americano de dermatología. Vol. 32, Núm. 6. [En línea]: Medicina Cutánea, (<http://www.medcutan-ila.org> Artículo, 20 de Ago. 2009).

SOUSA, I.; BARROS, A. ; ROCHAI, J. ; LIRAI, D; MONTEIROI, G.; MAIA, J., 2008. Evaluación toxicológica del aceite esencial de Piper aduncum L, Revista Brasileira de Farmacognosia. vol.18 no.2 [En línea]: Scielo (<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v18n2/13.pdf>. Articulo, 10 de Ene.2010).

UNIVERSIDAD NACIONAL AGARIA DE LA SELVA. 2005. Datos metereológicos. Estación metereológica José Abelardo Quiñones. Datos no publicados.

- VÁSQUEZ, H.; SALVADOR, C.; LETONA, E., 2002. Propiedades Antimicóticas In Vitro del extracto Cimaruba glauca contra *M. gypseum*, [En línea]: Redisal (<http://www.redisal.org.sv/Inventario/articulo%20cimaruba%20glauca%20M.pdf>. Artículo 18 de Ene. 2010).
- VARGAS, D., 2006. Cinética de acumulación y distribución de Flavonoides en Guayaba (*Psidium guajava* L.). Rev. Científica de América latina y el Caribe. Vol. 40, numero 0001. [En línea]; REDALYC. (<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/302/30240111.pdf>, journals, 29 Set. 2009)
- ZAMBRANO Z. A. y ZAMBRANO Z. E., 2000. Micosis Hospital del Niño Jesús. Madrid, [En línea]: Sepeap ([http://www.sepeap.org/imagenes/secciones/Image/ USER /PO\\_micosis.pdf](http://www.sepeap.org/imagenes/secciones/Image/USER/PO_micosis.pdf), Documento 10 Ene. 2010).

**ANEXO**

Datos del porcentaje de inhibición por tratamiento y por repeticiones de cada uno de los extractos de las plantas

Cuadro 3: Porcentaje de inhibición del extracto de guayaba.

GUAYABA									
GENERO HONGO	DILUCIONES	REPETICIONES			PROM	% DE INHIBICION	REPETICIONES % inhibicion		
		1	2	3			1	2	3
MICROSPORUM	CONTROL	68,33	78,33	74	73,55				
	10%	9,5	9,6	9,7	9,6	13,05	13,9	12,3	13,1
	40%	10,33	13	12,67	12	16,32	15,1	16,6	17,1
	70%	20	21	15	18,67	25,38	29,3	26,8	20,3
	100%	18,67	17	21	18,89	25,68	27,3	21,7	28,4
TRICHOPHYTON	CONTROL	26,5	27	27,5	27				
	10%	6	7	7,5	6,83	25,30	22,6	25,9	27,3
	40%	7	8	8,6	7,87	29,15	26,4	29,6	31,3
	70%	10	9,8	11	10,27	38,04	37,7	36,3	40,0
	100%	12	11,5	10,5	11,33	41,96	45,3	42,6	38,2

Cuadro 4: Porcentaje de inhibición del extracto de verbena.

VERBENA									
MICROORGANISMO	DILUCIONES	REPETICIONES			PROMEDIO	% DE INHIBICION	REPETICIONES % inhibicion		
		1	2	3			1	2	3
MICROSPORUM	CONTROL	68,33	78,33	74	73,55				
	10%	20,67	17,67	16,33	18,22	24,77	30,3	22,6	22,1
	40%	26,67	25,67	25	25,78	35,05	39,0	32,8	33,8
	70%	33	33	32,33	31,78	43,21	48,3	42,1	43,7
	100%	56,33	60,57	52,35	56,41	76,70	82,4	77,3	70,7
TRICHOPHYTON	CONTROL	26,5	27	27,5	27				
	10%	7	6,5	7,5	7	25,93	26,4	24,1	27,3
	40%	10	8	9,5	9,17	33,96	37,7	29,6	34,5
	70%	10	10,5	10	10,17	37,67	37,7	38,9	36,4
	100%	12,5	12	13	12,5	46,30	47,2	44,4	47,3

Cuadro 5: Porcentaje de inhibición del extracto de matico.

MATICO									
MICROORGANISMO	DILUCIONES	REPETICIONES			PROMEDIO mm	% DE INHIBICIO N	REPETICIONES % inhibicion		
		1	2	3			1	2	3
MICROSPORUM	CONTROL	68,33	78,33	74	73,55				
	10%	7	7	22	12	16,32	10,2	8,9	29,7
	40%	14	13	14	13,66	18,57	20,5	16,6	18,9
	70%	38,33	17,67	22	26	35,35	56,1	22,6	29,7
	100%	54	32,67	37,33	41,35	56,22	79,0	41,7	50,4
	CONTROL	26,5	27	27,5	27				
	10%	8,5	8	8	8,17	30,26	32,1	29,6	29,1
TRICHOPHYTON	40%	11,5	12	11	11,5	42,59	43,4	44,4	40,0
	70%	11,5	15	16	14,5	53,70	43,4	55,6	58,2
	100%	17	15	18	16,67	61,74	64,2	55,6	65,5
	CONTROL								

## 9.2. Análisis estadístico.

1. *Microsporum sp.*

## ➤ Dilución 10%

Variable dependiente: inb

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	0.03722222	0.01861111	2.11	0.2021
Error	6	0.05286667	0.00881111		
Total correcto	8	0.09008889			
	R-cuadrado	Coef Var			
	0.413172	21.77339			

Duncan Agrupamiento	Media	N	trat
A	0.52000	3	3
A	0.40333	3	2
A	0.37000	3	4

➤ Dilución 40%

Variable dependiente: inb

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	0.08268889	0.04134444	65.28	<.0001
Error	6	0.00380000	0.00063333		
Total correcto	8	0.08648889			

R-cuadrado    Coef Var

0.956064    5.044433

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Duncan Agrupamiento	Media	N	trat
A	0.63333	3	3
B	0.44667	3	2
B	0.41667	3	4

➤ Dilución 70%

Variable dependiente: inb

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	0.06426667	0.03213333	2.49	0.1635
Error	6	0.07753333	0.01292222		
Total correcto	8	0.14180000			
	R-cuadrado	Coef Var			
	0.453220	17.94883			

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Duncan Agrupamiento	Media	N	trat
A	0.73333	3	3
A	0.64000	3	2
A	0.52667	3	4

➤ Dilución 100%

Variable dependiente: inb

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	0.44542222	0.22271111	13.14	0.0064
Error	6	0.10166667	0.01694444		
Total correcto	8	0.54708889			

R-cuadrado    Coef Var  
 0.814168    15.85301

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Duncan Agrupamiento	Media	N	trat
A	1.0700	3	3
A	0.8633	3	2
B	0.5300	3	4

2. *Trichophyton sp,*

➤ Dilución 10%

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	0.00575556	0.00287778	6.64	0.0301
Error	6	0.00260000	0.00043333		
Total correcto	8	0.00835556			

R-cuadrado    Coef Var  
 0.688830    3.800202

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Duncan Agrupamiento	Media	N	trat
A	0.58333	3	2
B	0.53333	3	3
B	0.52667	3	4

➤ Dilución 40%

Variable dependiente: inb

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	0.02995556	0.01497778	14.81	0.0048
Error	6	0.00606667	0.00101111		
Total correcto	8	0.03602222			

R-cuadrado	Coef Var
0.831585	5.011940

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Duncan Agrupamiento	Media	N	trat
A	0.71000	3	2
B	0.62333	3	3
B	0.57000	3	4

➤ Dilución 70%

Variable dependiente: inb

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	0.04402222	0.02201111	9.95	0.0124
Error	6	0.01326667	0.00221111		
Total correcto	8	0.05728889			

R-cuadrado    Coef Var

0.768425    6.612532

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Duncan Agrupamiento	Media	N	trat
A	0.81000	3	2
B	0.66333	3	4
B	0.66000	3	3

➤ Dilución 100%

Variable dependiente: inb

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	0.06406667	0.03203333	21.04	0.0019
Error	6	0.00913333	0.00152222		
Total correcto	8	0.07320000			

R-cuadrado    Coef Var

0.875228    4.959619

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Duncan Agrupamiento	Media	N	trat
A	0.90333	3	2
B	0.75000	3	3
B	0.70667	3	4