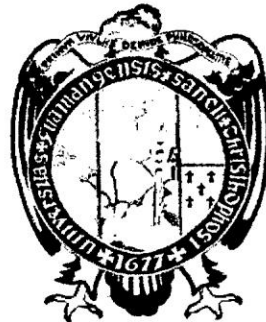


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**



**Actividad antimicótica del cremagel elaborado a
base de extracto atomizado de las vainas de
Caesalpinia spinosa "tara" frente a dermatofitos.
Ayacucho - 2013**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

Presentado por la:

Bach. LÓPEZ CHAUPÍN, Flor de María.

Ayacucho – Perú

2014

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Bach. Flor de María López Chaupín

R D N° 211 – 2014 – FCB – D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde con quince minutos del día viernes veintiuno de noviembre del año dos mil catorce, en el Auditorium de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se reunieron los miembros del jurado evaluador precedido por el Dr. Blgo. Víctor Humberto Alegría Valeriano encargado mediante R.D. N° 211-2014-FCB-D y que a la vez es miembro del jurado calificador y como miembros de este jurado el Mg. Blgo. Serapio Romero Gavilán, Mg. Q.F. Maricela López Sierralta como cuarto jurado y el Mg. Q.F. Edgar Cárdenas Landeo, como asesor y secretario docente encargado por R.D. N° 211-2014-FCB-D; con la finalidad de recepcionar el acta de sustentación de tesis titulada "Actividad antimicótica de la crema elaborada a base de extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos. Ayacucho-2013, presentado por la bachiller en Farmacia y Bioquímica Flor de María López Chaupín quien pretende obtener el título profesional de Químico Farmacéutica.

Constatado la documentación, el presidente encargado autorizó se dé inicio a la sustentación de tesis en el tiempo del reglamentario que no exceda los cuarenta y cinco minutos.

Concluida la sustentación el presidente encargado invita a los miembros del jurado para que puedan realizar sus preguntas, realizar las aclaraciones necesarias, a las cuales la sustentante dio las respuestas respectivas. Posteriormente, concluido el proceso de preguntas y aclaraciones, el presidente encargado del jurado evaluador invita al sustentante como al público asistente para que abandonen el auditorium, con la finalidad de efectuar la calificación por parte de los miembros del jurado evaluador, en estricto privado, obteniéndose los siguientes resultados:


Jurado calificador	exposición	preguntas	promedio
Dr. Blgo. Víctor Humberto Alegría Valeriano	17	15	16.0
Mg. Blgo. Serapio Romero Gavilán	17	16	16.5
Mg. Q.F. Maricela López Sierralta	16	16	16.0
Mg. Edgar Cárdenas Landeo	18	18	18.0
		Promedio:	17.0

De la calificación se obtiene la nota promedio de DIECISIETE (17).

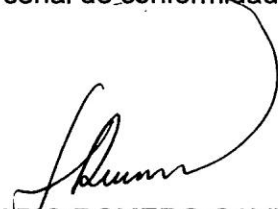
Se recomienda el siguiente título de la tesis: "Actividad antimicótica del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos. Ayacucho – 2013"

Se recomienda uniformizar los objetivos con verbos en infinitivo.

El acto de sustentación culmina siendo las siete de la noche con quince minutos, firmando al pie de la presente los miembros del jurado evaluador en señal de conformidad.



Dr. VÍCTOR H. ALEGRIA VALERIANO
Presidente - Miembro



Mg. SERAPIO ROMERO GAVILÁN
Miembro



Mg. EDGAR CARDENAS LANDEO
Asesor- Miembro secretario



Mg. MARICELA LÓPEZ SIERRALTA
Miembro

*A mis Padres Marcelina y Edgar, y
hermanos Saúl, Wilber y Yasbeth*

AGRADECIMIENTO

Un agradecimiento especial a mi *Alma Mater* la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjador de profesionales con capacidad creativa, innovadora y liderazgo; basadas en principios éticos y valores para el desarrollo sostenible y bienestar de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, al Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos, a sus docentes por sus enseñanzas y orientaciones durante mi formación profesional. Al laboratorio de la farmacia MASPHERMA especializada en la elaboración de preparados farmacéuticos.

Un reconocimiento especial al Mg. Q.F. Edgar CÁRDENAS LANDEO, al Mg. Blgo. Víctor CÁRDENAS LÓPEZ y al Mg. Q.F. Marco Rolando ARONÉS JARA, por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad en la realización de esta tesis.

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN	xix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes.	3
2.2. BASE TEÓRICA	4
2.2.1. Antimicóticos Naturales	4
2.2.2. Agente Antimicótico	5
2.2.3. Dermatofitosis	6
2.2.4. <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara"	9
2.2.5. Forma farmacéutica	12
2.2.6. Actividad antimicótica	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Lugar del trabajo de investigación.	17
3.2. Definición de la muestra	17
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	17
3.3.1. Recolección e identificación de la muestra.	17
3.3.2. Obtención del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i>	18
3.3.3. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado	19
3.3.4. Tamizaje fitoquímico del extracto atomizado de la <i>Caesalpinia spinosa</i> .	19
3.3.5. Formulación del cremagel de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara"	21
3.3.6. Control de los parámetros fisicoquímico del cremagel de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara".	24
3.3.7. Evaluación de la actividad antimicótica	25
3.4. Diseño experimental	27
3.5. Análisis de datos	28
IV. RESULTADOS	29

V.	DISCUSIÓN	41
VI.	CONCLUSIONES	47
VII.	RECOMENDACIONES	49
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
IX.	ANEXOS	57

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Morfología microscópica y localizaciones usuales de los principales géneros dermatofitos	8
Tabla 2. Parámetros de obtención del extracto	18
Tabla 3. Composición del cremagel de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara"	22
Tabla 4. Componentes de la crema base	22
Tabla 5. Componentes del gel base	22
Tabla 6. Concentraciones decrecientes de las diluciones del atomizado de la <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara"	27
Tabla 7. Características fisicoquímicos del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara". Ayacucho – 2014	30
Tabla 8. Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de <i>Caesalpinia spinosa</i> . "tara". Ayacucho - 2014	31
Tabla 9. Parámetros de las características organolépticas y pH del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara". Ayacucho - 2014	32
Tabla 10. Tipo de emulsión del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara". Ayacucho - 2014	33
Tabla 11. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara". Ayacucho - 2014	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Clasificación de antibióticos según mecanismo de acción	6
Figura 2. Vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara"	11
Figura 3. Estructura química de un galotanino de tara	12
Figura 4. Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado al cremagel elaborado a base del extracto atomizado de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" a concentraciones 3 %, 5%, 7% y blanco. Ayacucho - 2014.	34
Figura 5. Halos de inhibición (mm) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" a concentraciones 3 %, 5% y 7% frente a las diferentes cepas. Ayacucho – 2014.	35
Figura 6. Valores promedio de los halos de inhibición (mm) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" a concentraciones 3 %, 5%,7% y la Terbinafina (estándar) sobre cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho – 2014.	36
Figura 7. Porcentaje de los halos de inhibición (mm) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" a concentraciones 3 %, 5% y 7% sobre cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho – 2014.	37
Figura 8. Prueba de comparaciones del promedio de halos de inhibición a las concentraciones 3%, 5% y 7% del cremagel de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" y estandar frente a <i>Trichophyton mentagrophytes</i> . Ayacucho - 2014.	38
Figura 9. Prueba de comparaciones del promedio de halos de inhibición a las concentraciones 3%, 5% y 7% del cremagel de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" y estándar frente a <i>Trichophyton rubrum</i> . Ayacucho - 2014.	39

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Certificado de identificación de la <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" Ayacucho - 2014	58
Anexo 2. Fotografía de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" Ayacucho-2014	59
Anexo 3. Concentración del polvo de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – 2014.	60
Anexo 4. Filtrado y concentración del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – 2014.	61
Anexo 5. Fotografía del atomizador Spray Driver B290 del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos. Ayacucho - 2014	62
Anexo 6. Extracto atomizado de <i>Caesalpineea spinosa</i> "tara" realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – 2014.	63
Anexo 7. Tamizaje fitoquímico realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – 2014.	64
Anexo 8. Formulación del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" realizado en la Farmacia MASPHERMA especializado en preparados Magistrales. Ayacucho – 2014.	65
Anexo 9. Producto terminado realizado en el laboratorio de la Farmacia MASPHERMA especializado en preparados farmacéuticos. Ayacucho – 2014.	66
Anexo 10. Prueba de sensibilidad por Difusión en Agar realizado en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho – 2014.	67
Anexo 11. Halos de inhibición del cremagel elaborado base de extracto atomizado de <i>Caesalpineea spinosa</i> "tara" realizado en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho – 2014.	68
Anexo 12. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) realizado en el laboratorio de	

Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho – 2014.	69
Anexo 13. Prueba de Comparaciones del promedio de los halos de inhibición de acuerdo a las concentraciones frente a <i>Trichophyton rubrum</i> . Ayacucho - 2014	70
Anexo 14. Prueba de comparaciones del promedio de los halos de inhibición de acuerdo a las diferentes concentraciones frente a <i>Trichophyton mentagrophytes</i> . Ayacucho - 2014	71
Anexo 15. Esquema del procedimiento de la determinación de la CMI Y CMF	72
Anexo 16. Matriz de Consistencia	73

RESUMEN

La tiña de pie presenta distribución universal y es una de las formas de dermatofitosis más frecuente a nivel mundial. En las últimas décadas se ha observado no solo un notable aumento de las infecciones causadas por hongos, sino un incremento de la resistencia farmacológica. Por esta razón el objetivo general del estudio, fue determinar la actividad antimicótica *in vitro* del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos, el cual fue desarrollado en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) y el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de enero - agosto del 2014. Las muestras de *Caesalpinia spinosa* "tara" fueron recolectadas al azar, durante el mes de enero del distrito de Luricocha, provincia de Huanta del departamento de Ayacucho. En el extracto atomizado de tara se realizó el tamizaje fitoquímico, los metabolitos presentes en extracto atomizado fueron: taninos, fenoles, quinonas, saponinas y otros metabolitos secundarios. Así mismo se evaluó las características fisicoquímicas del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* "tara", como la solubilidad, el pH y las características de extensibilidad. El cremagel al 3,0 % presenta un color beige claro, el cremagel 5,0 % color beige y el cremagel 7,0 % color beige oscuro, tienen un pH de 5,90; 5,30 y 5,04 respectivamente.

El cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* "tara" al 7% presentó mayor actividad con un halo promedio de inhibición de 49,8667 mm frente a *Trichophyton rubrum*, mientras que frente al *Trichophyton mentagrophytes* no se apreció diferencias en cuanto a los halos de inhibición obtenidos ya que el cremagel al 3%, 5%, 7% y Terbinafina tienen la misma actividad antimicótica.

Palabras Clave: Actividad antimicótica, *Caesalpinia spinosa* "tara", dermatofitos.

I. INTRODUCCIÓN

Es probable que las infecciones cutáneas sean las infecciones micóticas más comunes de los seres humanos¹; Las micosis de la piel y mucosas constituyen un problema sanitario de alcance mayor en la población mundial de todas las edades.²

La dermatofitosis es causada por hongos de los géneros *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*.³

La tiña del pie o *tinea pedis* presenta distribución universal y es una de las formas de dermatofitosis más frecuente a nivel mundial. Además, se encuentra entre las diez dermatosis más habituales en la consulta dermatológica. La infección es de distribución mundial aunque predomina en medios urbanos.⁴

En las últimas décadas se ha observado no solo un notable aumento de las infecciones causadas por hongos, sino un incremento de la resistencia farmacológica que han mostrado varias especies de hongos a los diferentes antimicóticos que se utilizan en la práctica médica.⁵

Los modernos antifúngicos presentan una mayor selectividad de actuación y existen nuevas formulaciones galénicas que reducen los efectos secundarios de los utilizados clásicamente. A pesar de ello, el número de compuestos con actividad antifúngica es todavía muy reducido, por lo que existe un gran interés en la investigación de moléculas con nuevas dianas de actuación.⁶

Este aumento en el número de casos por infecciones fúngicas tanto invasivas como superficiales ha incrementado el interés particular por el estudio de la actividad *in vitro* a los antifúngicos naturales ya que estos pueden apoyar nuevas alternativas para el buen manejo del paciente y el respectivo tratamiento.⁷

La industria farmacéutica internacional ha abierto una novedosa línea de productos, basada en extractos estandarizados de especies vegetales. Esta tendencia, responde a la búsqueda de medicamentos naturales por parte de los consumidores. Hoy en día, se puede palpar un compromiso creciente en cuanto

a la investigación, el desarrollo, la innovación, la producción y comercialización de medicamentos basados en los extractos estandarizados de especies vegetales: fitoterapia.⁸

La *Caesalpinia spinosa* "tara", posee propiedades antibacterianas y antimicóticas, que puede ser usadas en el campo dermatológico como complemento al tratamiento de dermatofitosis, siendo disponibles en el Perú como alternativa terapéutica en atención de salud.⁹

La presente investigación pretende aportar una alternativa del tratamiento antimicótico; debido a que los hongos van adquiriendo resistencia contra los medicamentos antimicóticos sintéticos ya que son estos tratamientos orales prolongados, con un elevado costo económico, ocasionan como efecto secundario hepatotoxicidad, por lo cual se hace necesario el desarrollo de nuevos fármacos más eficaces, mediante el descubrimiento de moléculas bioactivas, que pueden ser aisladas de fuentes naturales, principalmente de especies vegetales.

Objetivos Generales

Evaluar la actividad antimicótica del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos.

Objetivos Específicos

- Identificación fitoquímica del extracto atomizado de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* "tara".
- Determinación de la actividad antimicótica del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos.
- Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos.
- Evaluación de las características fisicoquímicas del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes.

Goycochea R. realizó una investigación de la *Caesalpinia spinosa* en las Lomas de Atiquipa-Arequipa, que consistió en diferentes evaluaciones a las vainas (cuantificación de taninos y características de la vaina molida) determinó las características físico-químicas de las vainas de tara. Los resultados obtenidos fueron: el porcentaje de taninos es variable en la mayoría de los árboles un porcentaje de taninos por bloque contiene entre el 44% y 57% de taninos y 24,34% de otros compuestos; poseen un 25,83% de solubles totales, un 11,22% de sólidos totales y un contenido de humedad de 11,18%; también reporta que el pH es de 4,15 y un contenido de cenizas de 3,91%.¹⁰

En el trabajo de investigación realizado por Ferreira y col. titulado: "Efecto inhibitor del extracto crudo de las hojas de *Caesalpinia spinosa* en *Fusarium solani* y *Phoma tarda* en las dosis de 0,350 g, 0,500 g, 0,600 g, y 1,270 g, el promedio de crecimiento del micelio fue significativamente más corto que el del control del extracto de la planta, demostrando propiedades fungitóxicas en todos los tratamientos. La reducción del crecimiento micelial aumentó proporcionalmente al aumento del extracto de la planta para ambos hongos.¹¹

Ananca E. determinó el efecto antibacteriano del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa*, en concentraciones que corresponden a 17,5; 16,25; 15; 13,75; 12,5; 11,25; 10; 8,75; 7,5; 6,25 mg/ml, en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, usando inóculos estandarizados con el Nefelometro de Mc Farland N° 0,5 se encontró que se inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* cuya concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 12,5 mg/ml y la concentración mínima bactericida (CMB) fue de 15 mg/ml; para la inhibición de *Streptococcus pyogenes* la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 13,7 mg/ml y la concentración mínima bactericida (CMB) fue de 16,25 mg/ml. Se determinó que el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* "tara" tiene

actividad antibacteriana "in vitro" contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*.¹²

Liu H. y Lengua, evaluaron *in vitro* la actividad antibacteriana de extractos de *Caesalpinia spinosa* "tara" y *Eucalyptus sp.* "eucalipto" utilizando cepas bacterianas Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* y *Shigella flexneri*). Se utilizó como solvente de extracción una mezcla de alcohol-acetona (1:1) y la actividad biológica de los extractos obtenidos, se evaluó mediante la técnica de difusión en disco. La cáscara del fruto de *Caesalpinia spinosa* y las hojas del *Eucalyptus sp.* mostraron una actividad selectiva sobre las bacterias Gram positivas evaluadas.¹³

Kondo y col. determinaron el efecto antibacteriano del extracto alcohólico en diferentes concentraciones de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae* usando inóculos estandarizados con el Nefelometro de Mc Farland N° 0,5 encontrándose que el promedio de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos con las diferentes concentraciones ensayadas varía de 34,11 a 43,55 mm. A medida que se aumenta la concentración del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* se obtiene mayor diámetro de halo de inhibición.¹⁴

Huarino M. encontró halos de inhibición mayores a 9 mm con diámetros promedios que varían entre 12,32 a 17,32 mm según aumenta la concentración del extracto de *Caesalpinia spinosa*, se decidió comparar con un control positivo (Clorhexidina al 0,12%) que generalmente se usa como antiséptico oral, y un control negativo (alcohol 70°) encontrándose que los halos de inhibición obtenidos por el extracto de *Caesalpinia spinosa* fueron mayores que los obtenidos por los grupos controles (Clorhexidina 0,12% y alcohol 70°).¹⁵

2.2. BASE TEÓRICA

2.2.1. Antimicóticos naturales

En el mundo se ha venido explorando y valorando el uso de productos naturales como fuente de nuevos y variados agentes antimicóticos. Según los informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), aproximadamente el 80% de la población mundial utiliza productos naturales con fines medicinales.¹⁶

La creciente resistencia de las bacterias a los antibióticos químicos nos obliga a buscar otros remedios que nos ayuden a combatir eficazmente a los gérmenes que nos acechan. Son muchas las alternativas naturales que tenemos a nuestro

alcance.¹⁷

Se debe destacar que los fármacos a base de derivados de productos naturales presentan una inmensa ventaja respecto al tratamiento químico. En las plantas los principios activos siempre están biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias, que van a potenciarse biológicamente entre sí, de forma que en general no se acumulan en el organismo y sus efectos indeseables estén limitados.¹⁸

Simultáneamente al desarrollo tecnológico de la industria farmacéutica, ha desplegado un gran interés de parte de los investigadores por estudiar sustancias naturales que posean algunas propiedades farmacológicas.¹⁹

La Fitoterapia es esa ciencia que estudia la utilización de estos productos de origen vegetal con una finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico. Los medicamentos fitoterápicos están constituidos por ingredientes activos de origen vegetal formulados bajo la forma farmacéutica más adecuada para su administración. La Fitoterapia podría transformarse entonces, en un factor real de desarrollo para la agroindustria farmacéutica de Latinoamérica.²⁰

En lo que se refiere estrictamente a fitoterapia, la acción de una determinada planta medicinal depende en la mayoría de los casos de varios principios activos y no solo de un aislado existiendo. En la actualidad se conoce bastante bien la biosíntesis o vías de formación de los principios activos así como su estudio en diversas acciones farmacológicas.²¹

2.2.2. Agente antimicótico

El antimicótico o antifúngico es la sustancia que se utiliza en el tratamiento de enfermedades producidas por hongos, es aquella sustancia capaz de producir una alteración tal de las estructuras de una célula fúngica logrando inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad y capacidad de supervivencia, bien directa o indirectamente, lo que facilita el sistema de defensa del huésped.²²

Los antimicóticos incluyen una amplia variedad de sustancias con diferentes estructuras químicas de acuerdo a su mecanismo de acción (véase en la figura nº 1) los agentes antifúngicos pueden clasificarse en 5 grupos: polienos, azoles, equinocandinas, alilaminas y otros agentes que incluyen la griseofulvina y la 5-flucitosina.²³

Grupo farmacológico	Antifúngico	Mecanismo acción
Polienos	Anfotericina B deoxicolato	Se fija al ergosterol de la membrana del hongo y forma poros por los que se pierde K ⁺ y otros cationes.
	Anfotericina B liposomas	
	Anfotericina B complejo lipídico	
	Anfotericina B de dispersión coloidal	
Azoles	IMIDAZOLES	Inhiben la enzima 14 α demetilasa bloqueando el paso de lanosterol a ergosterol para la síntesis de membrana.
	•Ketoconazol	
	TRIAZOLES 1ra GENERACION	
	•Fluconazol	
	•Itraconazol	
	TRIAZOLES 2da GENERACIÓN	
	•Voriconazol	
•Posaconazol		
Equinocandinas	Caspofungina	Inhibición no competitiva de la glucán sintetasa impidiendo la síntesis del polisacárido de pared 1,3- β glucán
	Micafungina	
	Anidulofungina	
Alilaminas	Terbinafina	Inhibición de la escualeno epoxidasa bloqueando el paso de escualeno a lanosterol que luego es convertido a ergosterol
Otros	5 flucitosina	Pirimidina sintética que actúa como antimetabolito impidiendo la síntesis de DNA, RNA y proteínas.

Figura 1. Clasificación de antibióticos según mecanismo de acción.²³

También puede observar más de 115 presentaciones de preparados antifúngicos de uso tópico (crema, gel, pomada, polvo, solución, loción, spray, tabletas vaginales, etc.).²⁴ Aunque muchos de los antimicóticos disponibles son útiles en diversas infecciones entre las principales causas de la alta tasa de fracaso terapéutico son las dificultades en el tratamiento, los largos periodos de tratamiento, los deficientes diagnósticos y el escaso seguimiento micológico, sin embargo, la aparición de nuevos antifúngicos, las nuevas formulaciones, los tratamientos combinados o los nuevos métodos han supuesto mejoras evidentes.²⁵

2.2.3. Dermatofitosis

La micosis son infecciones producidas por la invasión de hongos, en ellas intervienen dos elementos principales el ser humano y el agente etiológico, deben tenerse en cuenta además otros factores, entre ellos el medio ambiente que favorece el desarrollo y la propagación del hongo y las causas que predisponen al paciente. En general existen micosis profundas y superficiales, siendo las superficiales aquellas que afectan el estrato corneo de la piel y sus anexos; y las profundas aquellas que afectan a los tejidos sub epidérmicos y

diferentes órganos del cuerpo.²⁶

Las dermatofitosis o tiñas constituyen el primero y sin duda el más importante de ellos. La epidemiología de las tiñas, tanto desde el punto de vista clínico como de agentes etiológicos, ha experimentado cambios a lo largo de la últimas décadas, en nuestro país, en el resto de Europa y Norteamérica.²⁷ Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la frecuencia de micosis superficiales es del 20 al 25% de la población general, de ellos del 5 - 10%, son por dermatofitos.²⁸

Las lesiones por dermatofitos se han considerado como unas de las patologías más frecuentes de la piel; las manifestaciones clínicas por este grupo de hongos se asocian con la capacidad que tienen de utilizar la queratina, el tipo de moléculas producidas generan inflamación y el grado de inmunosupresión selectiva que pueden inducir y que permiten que algunos de estos hongos puedan permanecer en el estrato córneo de la piel produciendo manifestaciones crónicas o eventualmente ninguna sintomatología directa, pero sí reacciones de hipersensibilidad como las dermatofitides.²⁹

Las dermatofitosis o tiñas del estrato corneo de la piel y de sus anexos a saber, uñas y cabellos son ocasionadas por mohos moniliáceos (hialinos) denominados dermatofitos y pertenecientes a las especies de los géneros *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*. La ubicación taxonómica corresponde al género *Arthroderma*, de la subdivisión *Ascomycotyn*.³⁰

Una de las micosis más frecuentes en la práctica diaria es probablemente la *tinea pedis*, esta afección, es conocida popularmente por un nombre curioso: Pie de Atleta, el termino lo propuso el medico norteamericano Dr. Charles Pebst, quien observo un gran número de casos de tiña de pie en hombres de anuncio los cuales eran conocidos como atletas. Esta micosis está bien difundida entre los deportistas al contagiarse con frecuencia en piscinas, duchas y gimnasios.³¹

La *tinea pedis* es causada por diversas especies. Se forma la descamación crónica en uno o en ambos pies, las lesiones suelen iniciarse en el último espacio interdigital, ocasionalmente llega a producir hiperqueratosis estas lesiones suelen ser asintomáticas o pruriginosas y en general permanecen en forma indefinida.³² La tiña de pie responde a todas los antifúngicos administrados de forma oral o local, de todas formas el tratamiento debe ser individualizado en función a las características del paciente, sobre todo en las dermatofitosis por *Trichophyton rubrum* y cuando exista afección onicomycótica.³³

Trichophyton

El género *Trichophyton* es miembro de la familia *Arthrodermataceae* del orden de los ascomicetos *Onygenale*, el género *Trichophyton* es un género de hongos que se caracterizan por el hecho de que desarrollan microconidios y macroconidios de paredes lisas, en la mayor parte de los casos los macroconidios están adheridos lateralmente y directamente a la hifa o en cortos pedicelos, su morfología macroscópica es muy variada en función de las distintas cepas, son productoras de tricofitias que parasitan la piel, uñas y pelo.³⁴

El *Trichophyton rubrum* y el *Trichophyton mentagrophytes* son los dos dermatofitos más comunes clínicamente causante de micosis de la piel³⁵, véase en la tabla 1.

Tabla 1. Morfología microscópica y localizaciones usuales de los principales géneros dermatofitos.³⁵

GÉNERO	PIEL	PELO	UÑAS	MACROCONIDIAS	MICROCONIDIAS
<i>Microsporium</i>	++	-	-	+++++	+
<i>Trichophyton</i>	++	++	++	+	+++++
<i>Epidermophyton</i>	++	++	++	+++++	-

Trichophyton rubrum,

Es el agente causal más frecuente en tiñas del cuerpo, de la ingle, de los pies, así como de onicomiosis. Es el agente causal hasta en el 80% de los casos.³⁷

El género *Trichophyton* se caracteriza por la producción de muchos microconidios y alguno o ningún macroconido. Los macroconidios cuando se forman son de paredes delgadas o lisas. El tamaño y la disposición de los microconidios son importantes para la identificación de la especie.³⁸

Hongo filamentoso con microconidios piriformes (de 3-5,5 x 2-3,5 µm), sésiles sobre las hifas formando racimos. Macroconidios muy escasos (de 40-55 x 6-7,5 µm), con varios tabiques, de formas irregulares, de pared fina y lisa, al final de la hifa. Abundan las clamidosporas intercalares, presencia de hifas en raqueta y ausencia de filamentos espirales.³⁹

Trichophyton mentagrophytes

Es un hongo de distribución mundial, produce colonias en Saboraud dextrosa

agar planas, de color blanco o crema con una superficie pulverulenta o aterciopelada y pigmento en el reverso amarillento o café-rosado, que con frecuencia se hace rojo-café con el tiempo; se encuentran numerosos microconidios semiesféricos o piriformes, con algunas hifas en espiral y clamidoconidios esféricos que se hacen más abundantes en cultivos viejos; también se encuentran algunos macroconidios en clava, de pared delgada y multiseptados en algunos cultivos, hidroliza urea en 5 días y la perforación de pelos es positiva. Su significancia clínica se refiere a que es antropofílico, causando con frecuencia tiña de los pies crónica, particularmente de tipo vesicular, tiña del cuerpo (más frecuentemente de las ingles), y algunas veces invasión superficial de la uña.⁴⁰

Epidermophyton

El género *Epidermophyton* está constituido por una sola especie: *Epidermophyton floccosum* que puede afectar la piel y a veces las uñas, pero es incapaz de parasitar el pelo.⁴¹

Es un hongo filamentoso que forma abundantes macroconidios (de 20-40 µm x 6-12 µm) en forma de masa dispuestos en racimos, con pared gruesa y lisa, con extremos romos, que presentan de dos a cuatro septos. Los macroconidios se asientan sobre el conidióforo por un pequeño pedículo. Microconidios ausentes. Hifas en raqueta y clamidosporas en cultivos viejos. Colonias visibles a los 7-9 días, como un mechón de hifas amarillentas (colonias de 2-3 cm de diámetro a los veinte días), con aspecto aterciopelado, finalmente pulverulento, planas, con centro umbilicado del que parten surcos radiales y color de verde amarillento a verde oliva. La zona marginal termina en una corona radial blanca, el reverso es amarillento con un centro naranja o amarillo parduzco. Las colonias se blanquean rápidamente y se vuelven flucosas y estériles.⁴²

2.2.4. *Caesalpinia spinosa* "tara"

Es un árbol pequeño, de dos a tres metros de altura, de fuste corto, cilíndrico y a veces tortuoso, y su tronco está provisto de una corteza gris espinosa, con ramillas densamente pobladas. En muchos casos las ramas se inician desde la base dando la impresión de varios tallos. La copa de la tara es irregular, aparasolada y poco densa, con ramas ascendentes. Sus hojas son en forma de plumas, ovoides y brillante, ligeramente espinosa de color verde oscuro y miden 1,5 cm de largo. Sus flores son de color amarillo rojizo, dispuestos en racimos de 8 cm a 15 cm de largo. Sus frutos son vainas explanadas e indehiscentes de

color naranja de 8 cm a 10 cm de largo y 2 cm de ancho aproximadamente, que contienen de 4 a 7 granos de semilla redondeada de 0,6 cm a 0,7 cm de diámetro, pero conforme madura va tomando tonalidades que van del amarillo al anaranjado-rojizo y de textura esponjosa.⁴³

Sus semillas son pequeñas miden aproximadamente 0,8 cm de ancho por 1 cm de largo. Inflorescencia con racimos terminales de 15 a 20 cm de longitud de flores ubicadas en la mitad distal, flores hermafroditas, zigomorfas, cáliz irregular provisto de un sépalo muy largo de alrededor de 1 cm, con numerosos apéndices en el borde, cóncavo, corola con pétalos libres de color amarillento, dispuestas en racimos de 8 a 20 cm de largo, con pedúnculos pubescentes de 56 cm de largo, articulado debajo de un cáliz corto y tubular de 6 cm de longitud; los pétalos son aproximadamente dos veces más grandes que los estambres.⁴³

Clasificación científica de la *Caesalpinia spinosa* "tara"⁴⁴

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Fabales
Familia	:	Caesalpinaceae
Género	:	Caesalpinia
Especie	:	<i>Caesalpinia spinosa</i> (Molina) kuntze
Nombre binomial	:	<i>Caesalpinia spinosa</i>

Distribución geográfica:

El Perú es el país de los Andes que tiene mayor área con bosques de tara, seguido muy de lejos por Bolivia, Chile, Ecuador y Colombia. Abarcando diversas zonas áridas, en Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia hasta el norte de Chile.⁴⁵

En forma natural se presenta en lugares semiáridos con un promedio de 230 a 500 mm de lluvia anual. También se le observa en cercos o linderos, como árbol de sombra para los animales, dentro de cultivos de secano, y como ornamental.⁴⁵

Composición química:

- **Hojas:** Contiene glicosidos, gomas, mucilagos, taninos (12,7% en la forma

de taninos galicos), antraquinonas: reina, sennosido, agliconas libres, C-glicosidos, aloe-emodina e iso-emodina, esteroides y flavonoides.⁴⁵

- **Vainas:** Contiene taninos hidrolizables (galotanino) en un rango de 40% a 60% según las condiciones ecológicas del vegetal, la hidrolisis de estos taninos conduce a la separación del ácido gálico; asimismo se han aislado galato de etilo y cuatro galatos del ácido quínico correspondiendo a los ésteres metílicos de 4,5-di-Ogaloilquinico y de 3,4,5- tri-O-galoilquinico, y a los ácidos 3,4-di-O- galoilquinico y 3,4,5-tri-O-galoilquinico.⁴⁵



Figura 2. Vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara"⁴³

- **Semillas:** Del endospermo se ha separado la goma o hidrocoloide galactomananico⁴⁵ en la que los componentes monomericos galactosa y manosa se encuentran en una relación de 41:70. La viscosidad intrínseca permitió determinar su peso molecular promedio en 351400, así mismo la goma da lugar a soluciones acuosas con característica de fluido pseudoplastico con una viscosidad promedio de 4000 cp.⁴⁶

Taninos

Los taninos vegetales son productos naturales de peso molecular relativamente alto los cuales tienen la capacidad de complejar fuertemente carbohidratos y proteínas.⁴⁷ Son compuestos polifenólicos que por sus características se dividen en dos grandes grupos.⁴⁶

- Los taninos hidrolizables consisten en un núcleo central de carbohidrato al cual se unen, mediante enlaces éster, ácidos fenólico carboxílicos (véase en la figura 3). Son ésteres de azúcares de ácidos gálico o elágico. Estos taninos

pueden ser fácilmente hidrolizados con ácidos, álcalis, agua caliente o enzimas.⁴⁸

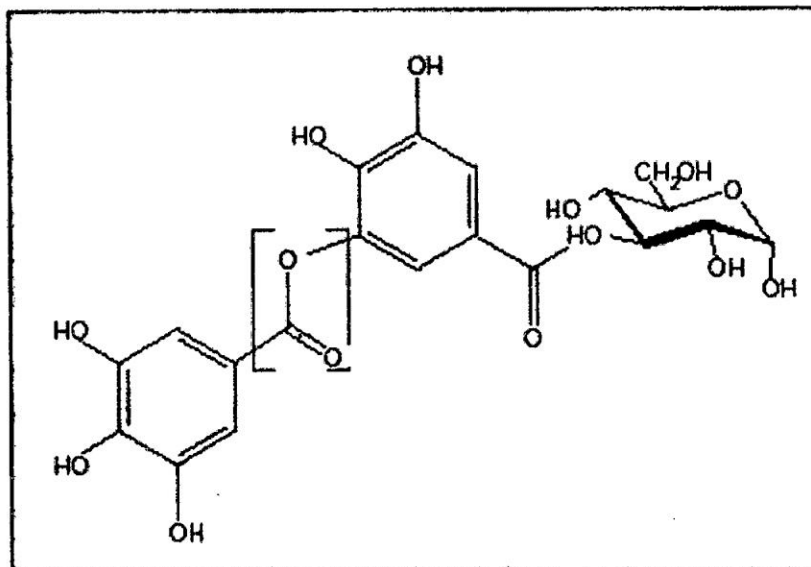


Figura 3. Estructura química de un galotanino de tara⁴⁸

- Los taninos condensados consisten en oligómeros de dos o más flavan-3-oles, tales como la catequina, epicatequina o la correspondiente galocatequina. También se describen como proantocianidinas. Dependiendo de la estructura química de la unidad monomérica, en particular del número de radicales hidroxilo, son clasificados en cuatro grupos, los dos más comunes son las procianidinas y las prodelfinidinas.

Los taninos son parte integral del sistema de defensa contra los herbívoros y otros patógenos de las plantas como bacterias, hongos, insectos y virus. Se ha comprobado que las plantas que reciben mayor ataque de los herbívoros son capaces de aumentar su concentración de taninos. Por ejemplo, una especie Africana de Acacia incrementó su cantidad de taninos 15 minutos después de iniciada la ingestión.⁴⁸

2.2.5. Forma farmacéutica

Se denominan preparados farmacéuticos, formas medicamentosas, formas farmacéuticas o de dosificación, o simplemente preparados a los productos procedentes de la transformación de una droga o de una asociación de drogas mediante procedimientos farmacotécnicos a fin de darles características físicas y morfológicas particulares que faciliten su administración y acción farmacológica, pero sin dosis establecidas.⁴⁹

Comprende a los principios activos y excipientes quienes dan como resultado una forma farmacéutica. La formulación implica la realización de diferentes

estudios destinados a conocer la pureza, solubilidad, capacidad de absorción, estabilidad, compatibilidad con excipiente y otras propiedades específicas de la forma farmacéutica.⁵⁰

Es la mezcla de determinadas proporciones e ingredientes en orden específico hasta alcanzar ciertas condiciones finales propias del producto en estudio, para lo cual se debe conocer las características de cada uno de los ingredientes.⁵¹

Formas farmacéuticas semisólidas

Son preparaciones de consistencia semisólida destinadas a ser aplicadas sobre la piel o sobre ciertas mucosas con el fin de ejercer una acción local o dar lugar a la penetración percutánea de principios activos; o por su propia acción emoliente o protectora.⁵²

Los sistemas semisólidos satisfacen una exigencia de las preparaciones de aplicación tópica, ya que en general, poseen buena adherencia, lo que hace que permanezcan sobre la superficie de aplicación por un tiempo razonable hasta que se elimine por lavado.⁵²

Clasificación

Todos los preparados de consistencia semisólida están, de hecho, englobados en la definición genérica de "semisólidos", pero a menudo se utilizan otras denominaciones más específicas, relacionadas con sus características fisicoquímicas y su consistencia más o menos blanda. Así, en la farmacopea Europea se distinguen las siguientes categorías.⁵³

Pomadas; constan de un excipiente de una sola fase el que se pueden dispersar sólidos o líquidos.

- Hidrófobas
- Absorbentes de agua.
- Hidrófilas.

Cremas; son formas farmacéuticas multifásicas constituidas por dos fases, una hidrófoba y otra hidrófila.

- Hidrófobas. La fase continua o externa es la fase lipófila debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo W/O.
- Hidrófilas. La fase externa es de naturaleza acuosa debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo O/W, tales como jabones sódicos o trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados y polisorbatos, a veces combinados en proporciones convenientes con emulgentes tipo W/O.⁵³

Geles; estas preparaciones están formadas por líquidos gelificados con ayuda de agentes apropiados.

- Hidrófobos (oleo geles). Están constituidos por excipientes como la parafina líquida adicionada de polietileno, aceites grasos gelificados con sílice coloidal o por jabones de aluminio o zinc.
- Hidrófilos (hidrogeles). Se elaboran con excipientes hidrófilos como el agua, el glicerol y los propilenglicoles, gelificados con sustancias como goma de tragacanto, almidón, derivados de la celulosa, polímeros carboxivinílicos, silicatos de magnesio y aluminio.⁵³

Cremagel; Presenta una textura muy ligera y fresca. Es una crema poco blanquecina, casi transparente y viscosa que se absorbe casi en segundos, no deja ninguna sensación grasa en la piel y puede contener diferentes principios activos en función de la formulación del producto. Este tipo de cremas se usan para formular productos para todo el cuerpo, contorno de ojos, etc.⁵³

Pastas; contienen elevadas proporciones de sólidos finamente dispersos en el excipiente por lo que, generalmente, su consistencia es bastante elevada y de bajo flujo, contienen polvos insolubles como óxido de zinc, almidón, caolín, talco (silicato de magnesio con trazas de aluminio). Son pomadas duras que contienen hasta un 50 % de polvo.⁵³

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos

Para determinar la calidad de un producto farmacéutico, se realizan controles tanto a nivel de procesos como en producto terminado, por lo tanto los parámetros a ser evaluados en las formas farmacéuticas semisólidas elaboradas son los siguientes:

Características organolépticas

Se determinarán las características organolépticas de las cremas siguiendo los procedimientos descritos anteriormente en el párrafo de evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara".

- Aspecto
- Color
- Olor

Características fisicoquímicas

- pH.
- Peso específico.

- Índice de refracción.
- Viscosidad.

2.2.6. Actividad antimicótica

La actividad antimicótica se utiliza para evaluar la actividad inhibitoria de una planta o de sus derivados. La actividad biocida se define como la capacidad que posee un fármaco o compuesto natural de inhibir el crecimiento o destruyendo a los microorganismos, generalmente los compuestos que poseen dicha actividad viene a tener un gran interés a nivel mundial ya que con ellos se puede controlar y hasta eliminar las infecciones provocadas por los microorganismos.⁵⁴

Para evaluar la actividad es preciso conocer el modelo antimicótico perfectamente y tenerlo controlado en las condiciones de laboratorio, ya sea por procedimientos *in vitro* o *in vivo*.⁵⁴

- ***in vitro***

Los procedimientos más frecuentemente empleados son los mismos que los utilizados para la valoración de la actividad antimicótica e incluyen ensayos de macrodilución y microdilución en caldo, dilución en agar y difusión con discos. Los métodos que utilizan medios líquidos tiene la ventaja de poder determinar la actividad bactericida o fúngica, mientras que la dilución en agar y la difusión con discos solo establecen la actividad estática. Para medir la actividad antimicótica, estos estudios se realizan en una primera etapa de cribado para definir cualitativamente los perfiles y posteriormente de forma cuantitativa, determinando los valores de CMI (Concentración Mínima Inhibitoria) y de CMB (Concentración Mínima fungicida). La determinación de estos valores permite establecer comparaciones con antibióticos convencionales.⁵⁵

Dentro de los procedimientos *in vitro*, encontramos ensayos para bacterias y hongos, virus, protozoos y helmintos.⁵⁵

- ***in vivo***

La mayoría de los ensayos *in vivo* sobre la actividad de los extractos de plantas se han realizado examinando la posible eficacia antiprotozoario probablemente por el interés de introducir alternativas terapéuticas en países en desarrollo de las zonas tropicales.⁵⁵

Dentro de los métodos *in vivo*, encontramos a los ensayos en animales de experimentación y ensayos clínicos en humanos.⁵⁵

Métodos de estudio de la actividad antimicótica

Existen diferentes métodos para evaluar la actividad antimicótica de extractos y preparados a base de plantas medicinales, son los métodos de difusión y dilución.

- **Difusión;** el método de difusión usa como un procedimiento cualitativo, semicuantitativo y a veces cuantitativo, generalmente los microorganismos son categorizados como resistentes, intermedio o susceptibles para cada agente antimicrobiano, estos son aplicados en forma de discos de papel filtro y se conoce como método de Bauer-Kirby.⁵⁵
- **Dilución;** el método de dilución se usa para determinar la concentración inhibitoria mínima (CMI) que se requiere del agente antimicrobiano para inhibir o matar al microorganismo, se utiliza principalmente el método de Mitscher, que es recomendado para tamizajes de productos naturales, es reproducible y relativamente fácil de estandarizar y procesa gran cantidad de muestra.⁵⁵

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar del trabajo de investigación.

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) y el laboratorio de Parasitología durante los meses de enero - agosto del 2014, ubicado en la ciudad Universitaria Av. Independencia s/n Huamanga.

3.2. Definición de la muestra

3.2.1. Muestra Biológica

5 kg de vainas de *Caesalpinia spinosa*, "tara"

Unidad experimental

- *Trichophyton rubrum*
- *Trichophyton mentagrophytes*
- *Epidermophyton floccosum*

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección e identificación de la muestra

Las muestras de *Caesalpinia spinosa* "tara" fueron recolectadas al azar, durante el mes de enero del distrito de Luricocha, provincia de Huanta del departamento de Ayacucho fueron transportadas al Laboratorio de Control de calidad, donde fueron secadas al medio ambiente, previamente acondicionada, teniendo como base papel Kraft, fue cambiada constantemente y volteando la muestra para un secado uniforme, evitando el deterioro por la humedad y separando aquellas que cambien de color o muestren signos de alteración.

Para la identificación taxonómica se emplearon muestras con flores, vainas y hojas lo que corresponde a cada planta, lo cual se realizó en el Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas, con certificación a cargo de la Blga. Laura Aucasime Medina (Anexo 1).

3.3.2. Obtención del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa*

Una vez desecada las vainas de *Caesalpinia spinosa* se procedió a despepitárlas separando las pepas de las fibras de vainas. Las vainas fueron reducidas a partículas pequeñas utilizando el molino de cuchillas de 1cm aproximadamente obteniéndose un polvo fino y fibra de tara contenido con un 52% a 54% de taninos⁵⁶.

Obtención del extracto atomizado

Los 1905 g de muestra seca y pulverizada de *Caesalpinia spinosa* "tara" en estudio, se concentró en una marmita o tanque de 100 L de acero inoxidable a una temperatura de 50 °C y no mayor a 75 °C. Se extrajo los taninos bajo los siguientes parámetros.⁵⁶

Tabla 2. Parámetros de obtención del extracto⁴²

Temperatura	Tiempo	Relación agua/polvo	Numero de lavados
65 - 70°C	30 - 40 minutos	5/1 a 4/1	4 – 5

- Se realizó el primer lavado con 9500 ml de agua destilada; en un tanque de 100 L a una temperatura inicial de 50 °C con agitación constante durante 30 minutos.
- Se realizó 4 lavados más con los mismos parámetros utilizados en el primer lavado llegándose a obtener 36 L de extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa*.
- Se filtró el extracto acuoso obtenido utilizando papel filtro y algodón con la bomba de succión y embudo de buchner.⁵⁶

Concentración de la muestra

Se concentró la muestra en un rotavapor industrial a una temperatura menor a 45 °C hasta llegar a un 10 % de sólidos totales obteniéndose 8,3 L de extracto concentrado de tara.^{57,58}

Atomización del extracto acuoso

La solución concentrada se secó utilizando el atomizador Spray Driver B290 del CEDACMEF de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. Se consideró los siguientes parámetros:^{57,58}

- Temperatura de entrada: 150 a 180 °C

- Temperatura de Salida: 77 a 86 °C
- Aspirador 100%
- Porcentaje de Bomba: 15 a 30 %
- Flujo de muestra: 3-4 cm³/ min

Se obtuvo 373,65 g de atomizado el cual fue guardado en bolsas herméticamente selladas dentro de un desecador para evitar que el producto adquiriera humedad.

3.3.3. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado

Una vez obtenido el extracto se evaluaron los siguientes parámetros fisicoquímicos que califican la calidad de nuestro atomizado.

Determinación de las características organolépticas:

Color: Se tomó una cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj o tubo de prueba, esta es colocada en un fondo blanco, se observó y se determinó el color utilizando el círculo cromático.⁵⁹

Olor: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj o tubo de ensayo, se percibe y se determina el tipo de olor. Según la estructura estereoquímica presenta un olor característico.⁵⁹

Sabor: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, para luego hacer contacto con la lengua y se determinó el tipo de sabor: El ser humano es capaz de percibir y distinguir cinco sabores elementales: dulce, amargo, ácido, salado y suigüeneris.⁵⁹

Aspecto: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se observó y se determinó el aspecto de la muestra.⁵⁹

3.3.4. Tamizaje fitoquímico del extracto atomizado de la *Caesalpinia spinosa*.

Se realizó una marcha fitoquímica cualitativa del extracto atomizado, identificando los diferentes compuestos químicos de la tara. Las reacciones de identificación se realizaron siguiendo la metodología propuesta por Miranda M y Cuellar A. del Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de la Habana-Cuba.^{59,60}

La identificación cualitativa de los principales grupos de metabolitos secundarios se realizó mediante ensayos de coloración y precipitación.^{59,60}

Determinación de la solubilidad.

La solubilidad en agua se determinó vertiendo en un tubo de ensayo 1 ml de agua destilada, luego se añadió 1 g de muestra, se agitó fuertemente, en caso

de no disolverse se aumentó el disolvente a 10 ml, se agitó y observó.^{59,60}

Determinación del pH.

Para determinar el pH se utilizó el pHmetro digital del Centro de Desarrollo de Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos, siguiendo el procedimiento descrito en el manual de uso y las determinaciones se realizaron a una temperatura de 25°C, previamente calibrado. Las determinaciones que presenten variaciones dentro 0,02 unidades de pH, son aceptadas para promedio con un nivel de confianza de 95%.^{59,60}

Determinación del contenido de humedad.

Se pesó 2 g de muestra con desviación permisible de 0,5 mg y se transfirió a una capsula de porcelana previamente tarada y se deseco a 105 °C durante 3 horas hasta masa constante. La cápsula se colocó en la desecadora donde se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó, colocándose nuevamente en la estufa durante una hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.^{57,58}

Cálculo:

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 10$$

Dónde:

Hg: Pérdida de peso por desecación (%)

M: Masa de la cápsula vacía (g)

M₁: Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M₂: Masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g)

100: Factor matemático

Determinación de las cenizas totales.

Se pesó no menos de 2,0 g de muestra, con una desviación permisible de 0,6 mg en un crisol de porcelana o platino previamente tarado. Se calentó suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incineró en una mufla a una temperatura de 700 a 750 °C durante 2 horas. Se enfrió el crisol en una desecadora y se pesó, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0,5 mg.^{57,58}

Cálculo:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Dónde:

C: porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M: Masa del crisol vacío

M₁: Masa del crisol con la porción de ensayos (g)

M₂: Masa del crisol con la ceniza (g)

100: factor matemático

Determinación de sustancias solubles.

Se pesó exactamente 5 g de la muestra de ensayo y se transfirió a un erlenmeyer de 250 ml, se añadió 100 ml de disolvente, se tapó y se agitó durante 6 horas, dejándose en reposo hasta el día siguiente; se agitó 30 min, se dejó reposar alrededor de media hora más y se filtró por papel. Se tomó una alícuota de 20 ml y se transfirió a una capsula previamente tarada. Se evaporó sobre baño de agua y se desecó en estufa a 100 °C durante 2,5 – 3,0 h se enfrió y se pesó.^{57,58}

Cálculo:

$$S = \frac{R. 500.100}{M. (100 - H)}$$

Dónde:

S: Sustancias solubles (%)

H: Humedad de la muestra (%)

500 y 100: Factores matemáticos para cálculos

R: Residuo de la muestra (g)

M: Masa de la muestra (g)

3.3.5. Formulación del cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara"

- Se eligió los materiales necesarios para la formulación de la crema.
- Se eligió los excipientes adecuados y compatibles de acuerdo a las características fisicoquímicas del extracto atomizado para la formulación del cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara". Se determinó las concentraciones a las cuales se formuló.⁶¹

Tabla 3. Composición del cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara"

	Blanco	Extracto atomizado de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara"		
		3%	5%	7%
Crema base	20%	20%	20%	20%
Gel Base	10%	10%	10%	10%
Propilenglicol	1%	1%	1%	1%
Agua		Csp 100%		

Tabla 4. Componentes de la crema base

Componentes	Concentración
Fase Oleosa	
Cera Lanet SX	15%
Cetiol	10%
BHT	0.10%
Fase Acuosa	
Parabenos	1.50%
Propilenglicol	0.50%
H ₂ O Csp.	100%

Tabla 5. Componentes del gel base

Componentes	Concentración
Carbopol 949	2%
Parabenos	1,5%
Propilenglicol	10%
H ₂ O	Csp. 100%

Elaboración de la crema base

- **Formación de la fase oleosa:** se colocó en un recipiente de acero inoxidable provista de baño maría: cera Lanet SX, cetiol y BHT se fundió a 70 °C bajo agitación moderada.
- **Formación de la fase acuosa:** en un recipiente adecuado de acero inoxidable provisto de baño maría se incorporó agua purificada y se calentó a 70 – 75 °C, después se agregó parabenos y propilenglicol, se agitó hasta disolución completa.

- **Formación de la emulsión final:** una vez que los ingredientes estén totalmente disueltos en sus respectivas fases y manteniendo las correspondientes temperaturas se incorporó lentamente bajo agitación moderada la fase acuosa sobre la base oleosa, evitando la formación de burbujas, hasta lograr una emulsión completa. Luego, se apagó las fuentes de calor y se dejó hasta que la temperatura descienda, mientras se continúa agitando constantemente.

Elaboración del gel base

- Se pesó el carbopol y se dejó diluir por aproximadamente 14 horas en agua destilada. Una vez formado una base homogénea se incorporó el parabeno y se agitó constantemente; agregándose propilenglicol y siguiéndose agitando hasta que todo sea homogéneo, por último se agregó cantidad suficiente de agua destilada y se siguió agitando con cuidado hasta la obtención del gel.

Elaboración del cremagel de *Caesalpinia spinosa*

- Se formuló el cremagel elaborado a base de *Caesalpinia spinosa* a las concentraciones de 3%, 5% y 7%.
- Se pesó el extracto atomizado de tara correspondiente a cada una de las concentraciones establecidas.
- En un mortero de porcelana se disolvió el extracto atomizado de tara utilizando como diluyente al agua destilada, a esta primera fase le llamamos solución 1.
- En otro recipiente se disolvió el gel base y la trietanolamina a esta fase le llamamos solución 2.
- Llevamos la solución 2 sobre la 1 hasta que se diluya con homogeneidad, le llamamos solución 3.
- A la solución tres formada se le agregó poco a poco la crema base hasta formarse así el cremagel de tara.
- Se repitió todos los pasos realizados para elaborar el cremagel a las concentraciones 5% y 7%.
- Una vez realizado sus controles y ensayos, se envasó en envases previamente sanitizados en un ambiente aséptico y se verificó el peso obtenido de cada concentración del cremagel.

3.3.6. Control de los parámetros fisicoquímico del cremagel de *Caesalpinia spinosa*. "tara"

Para determinar y establecer la calidad de un producto farmacéutico, este debe de cumplir con ciertas especificaciones establecidas en las farmacopeas u otras bibliografías científicas autorizadas, por tanto los parámetros a ser evaluados en la forma farmacéutica semisólida elaborada son los siguientes:

Determinación de las características organolépticas

Se determinó las características organolépticas de la crema siguiendo los procedimientos descritos anteriormente.

Determinación de pH

Para determinar el pH se siguió el método de Fiedler, se tomó 5 a 10 g de crema en un vaso precipitado y luego se llevó a baño maría, se fundió la muestra y se agregó 30 ml de agua bidestilada a pH 7 calentada a 70 °C, se mezcló bien hasta formación de dos fases; se filtró la fase acuosa y se determinó el pH del filtrado.^{59,60}

Determinación del tipo o signo de emulsión

Método de dilución: En dos tubos de ensayo se colocó 1 a 5 ml de emulsión, a uno de ellos se agregó 5 ml de agua y al otro 5 ml de vaselina líquida o alcohol, se mezcló y se observó.

El tubo que presenta un aspecto homogéneo indica la fase externa de la emulsión, es decir si presenta una dispersión homogénea en agua la fase externa es acuosa (O/W) y si es homogéneo en vaselina o alcohol la fase externa es oleosa (W/O).^{59,60}

Determinación del índice de extensibilidad

Para realizar este ensayo se utilizaron dos placas de cristal (10 X 10 cm) entre las cuales se colocó una cantidad pesada del preparado (por ejemplo 2 g), trabajar a una variación de temperatura de $\pm 0,5$ °C.

Se coloca la placa inferior de cristal sobre una hoja de papel milimetrado. Se recuadra la placa y se trazan las diagonales, se coloca la muestra del preparado sobre el punto de intersección. Se pesa la placa superior y se sitúa sobre la inferior. Pasado un determinado tiempo (1 minuto), y por efecto de la presión, la preparación se habrá extendido de forma aproximadamente circular.^{59,60}

Se anotó los valores de los dos diámetros y se calculó el diámetro medio y a partir de éste, se calculó la superficie del círculo formado.

Se repitió esta operación con sucesivos pesos (por ejemplo, 50, 100, 200 y 500 g) colocados en el centro de la placa. Se representó la extensibilidad en mm² ($\text{Área} = n(d/2)^2$) frente a los pesos empleados.⁶⁰

3.3.7. Evaluación de la actividad antimicótica

Activación de los hongos dermatofitos

Se preparó Agar Soya Trypticase y se dispersaron en tres tubos con tapas rosca éstas se autoclavaron; sobre estos tres tubos con agar se sembró las cepas de *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum* ATCC 25923, proporcionados por el Instituto Nacional de Salud y se incubaron a 30 °C por 7 días. Este cultivo madre se utilizó para realizar las pruebas de actividad antimicótica.^{61,62}

Preparación del inóculo

Se seleccionaron las cepas de *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum*; se sembró en placas Petri que contenían agar Saboraud dextrosado y se incubó a 30 °C por 7 días para luego transferirlas a un tubo con 5 ml de solución salina, para obtener una turbidez ópticamente similar al estándar 0,5 de la escala Mc Farland.^{61,62}

Determinación de la actividad antifúngica

Para determinar la actividad antimicótica del cremagel de extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara" se empleó la técnica de "disco en agar".

- Se preparó agar Müller Hinton el cual fue esterilizado y enfriado para luego añadir 18 ml del medio en cada placa Petri estéril.
- Una vez solidificado el medio, se sembró las diferentes cepas de hongos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum* ATCC 25923 se sembró por el método de estrías usando un hisopo estéril, haciendo un extendido por toda la placa, después se dejó secar las placas por 30 minutos al ambiente.
- Luego se colocó los discos de papel Wetex secante de 6 mm de diámetro y 0,6 mm de grosor embebidos con las diferentes concentraciones del cremagel de 3%, 5%, 7%, blanco y estándar (Terbinafina), las placas se incubaron a 30°C por 7 a 14 días.^{54,61,62}

Lectura e interpretación de los resultados

Se observaron las zonas de inhibición (halos) y se midieron los diámetros de los halos utilizando un vernier.^{61,62}

Para el cálculo de porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Diámetro del halo de inhibición de la muestra}}{\text{Diámetro del halo de control}} \cdot 100$$

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se procedió a la dilución del extracto en una serie de tubos que contenían caldo Saboraud dextrosado para el crecimiento del dermatofito que se va a ensayar. Se inoculó las cepas de *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes* y se incubó a 35°C por 3 días y se determinó la concentración mínima inhibitoria del antimicótico.⁶³

Procedimiento:

- Para hallar la concentración mínima inhibitoria (CMI) se preparó 15 tubos previamente esterilizados y rotulados del número 1 al 15.
- Se agregó a partir del tubo N° 1 hasta el tubo N° 15, 1 ml de caldo nutritivo.
- Posteriormente se agregó 2 ml del extracto preparado al 7 %, al tubo N° 1, a partir del cual se traspasó 1 ml al tubo N° 2 y así sucesivamente hasta el tubo N° 14, del tubo N° 14 se extrajo 1 ml y se descartó. El tubo N° 15 no recibió extracto, siendo éste el control.
- Luego se adicionó 1 ml del inóculo de *Trichophyton rubrum*, a todos los tubos e inmediatamente se llevó a incubar los tubos a 35 °C entre 3 a 7 días. El mismo procedimiento se realizó para el *Trichophyton mentagrophytes* (anexo 17).

Tabla 6. Concentraciones decrecientes de las diluciones del atomizado de la *Caesalpinia spinosa* "tara"

Tubos	<i>Trichophyton Rubrum</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
1	0,0700	0,0700
2	0,0359	0,0359
3	0,0175	0,0175
4	0,0875	0,0875
5	0,0437	0,0437
6	0,0218 (CMF)	0,0218
7	0,0109 (CMI)	0,0109 (CMF)
8	0,0054	0,0054 (CMI)
9	0,0027	0,0027
10	0,0013	0,0013
11	0,0006	0,0006
12	0,0003	0,0003
13	0,0001	0,0001
14	0,00008	0,00008

Se observa el crecimiento del hongo por la presencia de turbidez en el medio. El punto final de la CMI se definió como la dilución del tubo en el que no presenta turbidez, para esto se comparó el tubo utilizado como blanco. La concentración mínima inhibitoria es la menor concentración de antimicótico capaz de inhibir el crecimiento de los dermatofitos.

Determinación de la concentración mínima fungicida (CMF)

Para determinar la CMF se utilizó la concentración mínima inhibitoria, se seleccionaron los tres tubos en los que no se observaron turbidez al determinar la CMI, a partir de los cuales fueron sembrados en placas con agar Saboraud dextrosado y posteriormente se incubaron por 4 a 7 días. (Anexo 12)

3.4. Diseño experimental

Tipo de investigación

- Experimental

Diseño de investigación

Diseño con pos prueba únicamente y grupo control

RG1 X O1

RG2 X O2

R: asignación al azar o aleatoria.

G: Grupos de sujetos (G1, grupo 1; G2 grupo 2; etc.)

X: Tratamiento, estímulo o condición experimental.

O: Medición experimental

- : Ausencia de estímulo. Indica grupo control o testigo

3.5. Análisis de datos

Los resultados se procesaron comparativamente en cuadros y gráficos estadísticos y fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) que permitió determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias de las diferentes concentraciones fueron analizadas por la prueba de Tukey, para el estudio se utilizó un nivel de confianza de $p < 0,05$, el software estadístico SPSS versión 20,0.

IV. RESULTADOS

Tabla 7. Características fisicoquímicos del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara". Ayacucho – 2014.

PARAMETROS	ENSAYOS	RESULTADOS
Organolépticos	Color	Beige claro
	Olor	Característico
	Sabor	Astringente
	Aspecto	Polvo fino
Solubilidad	Agua	Muy soluble
	Metanol	Soluble
pH	pH - metro	3,5
Humedad	Gravimétrico	9,70%
Cenizas	Gravimétrico	3,19 %
Rendimiento	Sólidos Totales	11,89%

Tabla 8. Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa*. "tara". Ayacucho - 2014.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
Alcaloides	Dragendorff	+	No hay reacción
	Mayer	+	Opalescencia ligera
Azúcares reductores	Fehling	+	Precipitado rojo
Catequinas	Catequinas	++	Mancha verde carmelita a luz UV
Saponinas	Espuma	++	Si hay presencia de espuma
Flavonoides	Shinoda	++	Fase amilica de color amarillo intenso
	NaOH 20%	++	Color naranja
	H ₂ SO ₄ (c)	++	Color amarillo
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración negro azulado
Quinonas	Borntrager	+	Coloración roja

Leyenda:

(-) : Ausente (+) : Escasa (++) : Buena (+++) : Excelente

Tabla 9. Parámetros de las características organolépticas y pH del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara". Ayacucho 2014.

PARÁMETROS	ENSAYOS	FÓRMULAS	RESULTADOS
Características organolépticas	Color	Crema 3,0%	Beige claro
		Crema 5,0%	Beige
		Crema 7,0%	Beige oscuro
	Olor	Crema base	Blanco nieve
		Crema	Suigeneris
		Crema	Amargo
Aspecto	Crema	Homogéneo	
pH	-	Crema base	6,93
		Crema 3,0%	5,90
		Crema 5,0%	5,30
		Crema 7,0%	5,04

Tabla 10. Tipo de emulsión del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara". Ayacucho – 2014.

MÉTODOS	SOLVENTE	RESULTADOS
Dilución	Agua purificada	Homogéneo, Soluble y (Emulsión O/W)

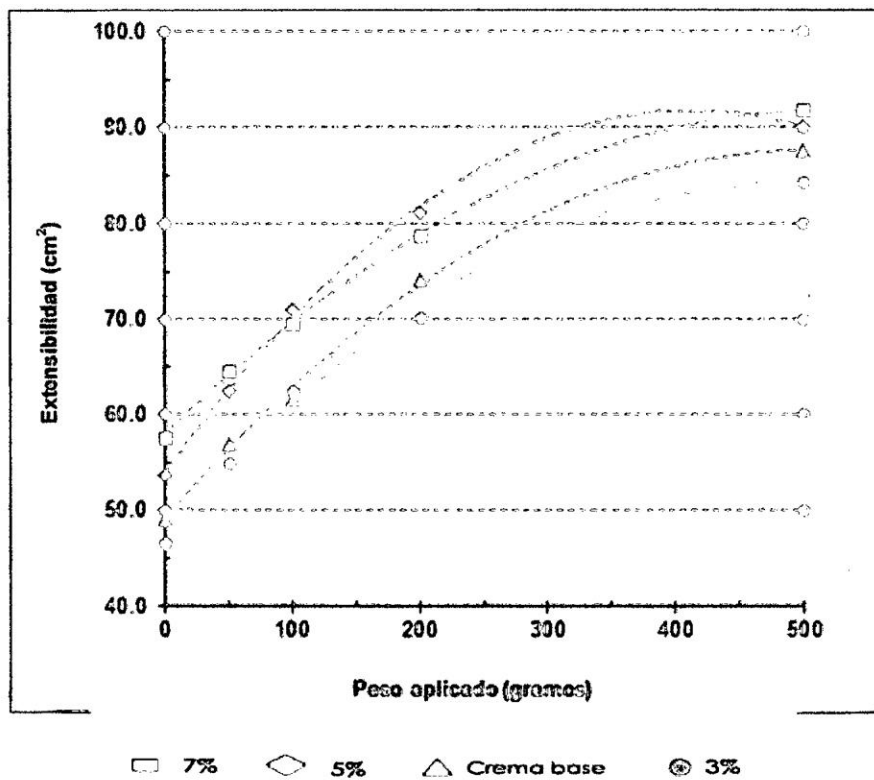


Figura 4. Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado al cremagel elaborado a base del extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara" a concentraciones 3 %, 5%, 7% y blanco. Ayacucho - 2014.

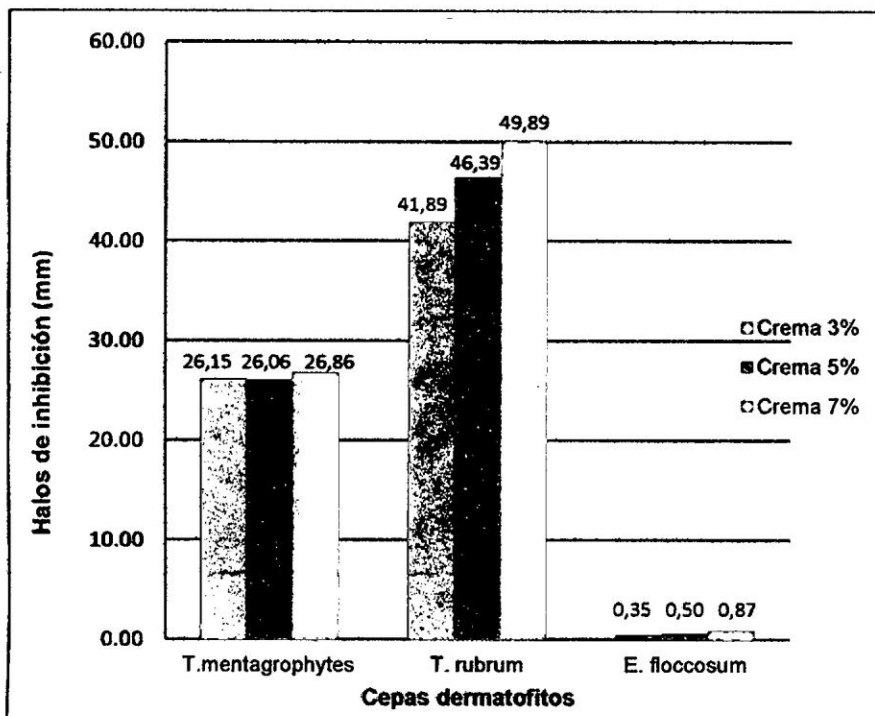


Figura 5. Halos de inhibición (mm) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" a concentraciones 3 %, 5% y 7% frente a las diferentes cepas. Ayacucho – 2014.

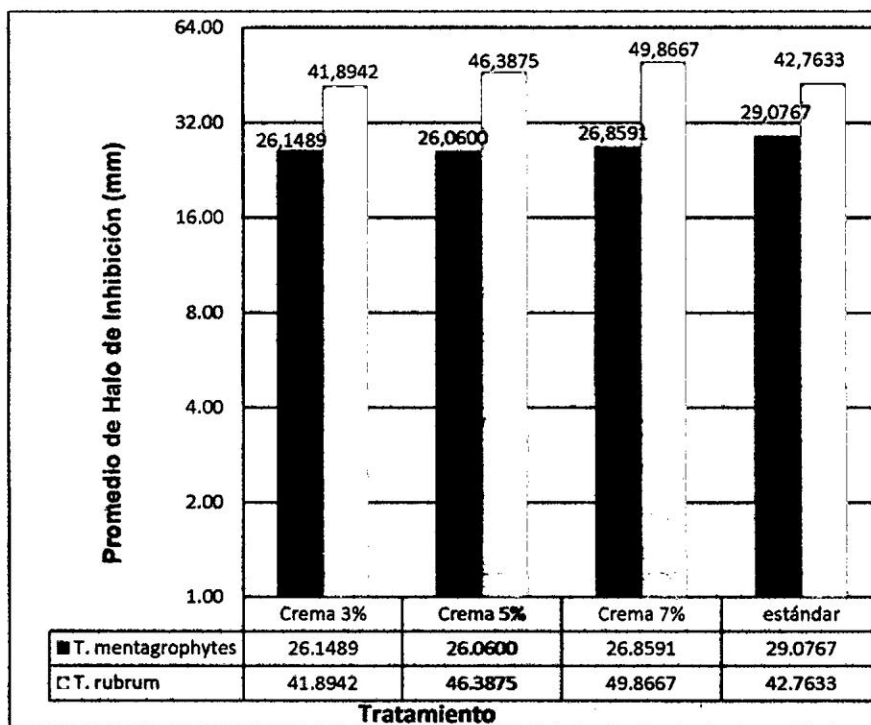


Figura 6. Valores promedio de los halos de inhibición (mm) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara" a concentraciones 3 %, 5%,7% y la Terbinafina (estándar) sobre cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho – 2014.

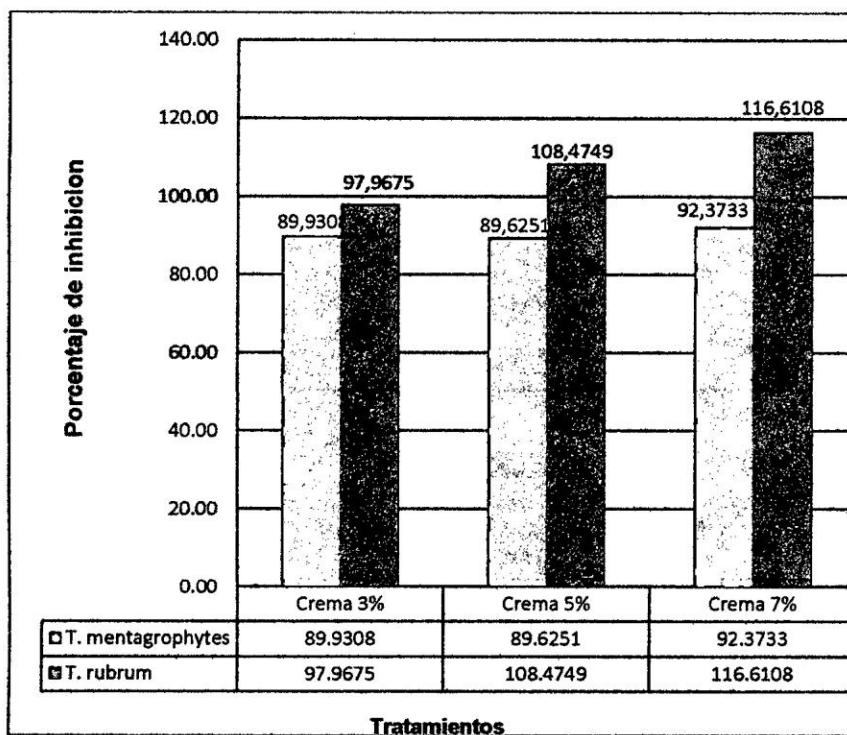


Figura 7. Porcentaje de los halos de inhibición (mm) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" a concentraciones 3 %, 5% y 7% sobre cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho – 2014.

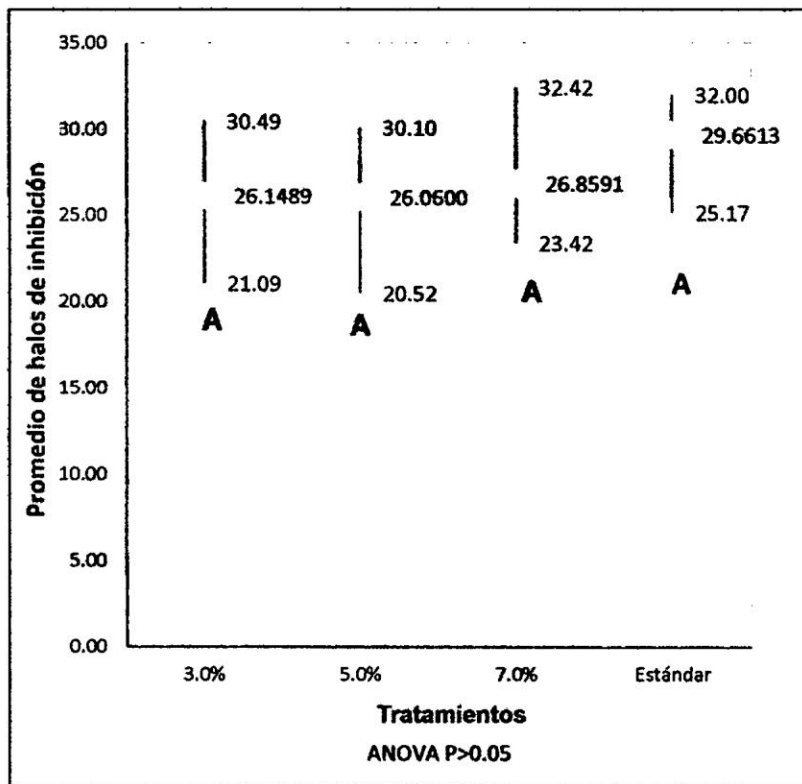


Figura 8. Prueba de comparaciones del promedio de halos de inhibición a las concentraciones 3%, 5% y 7% del cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara" y estandar frente a *Trichophyton mentagrophytes*. Ayacucho - 2014.

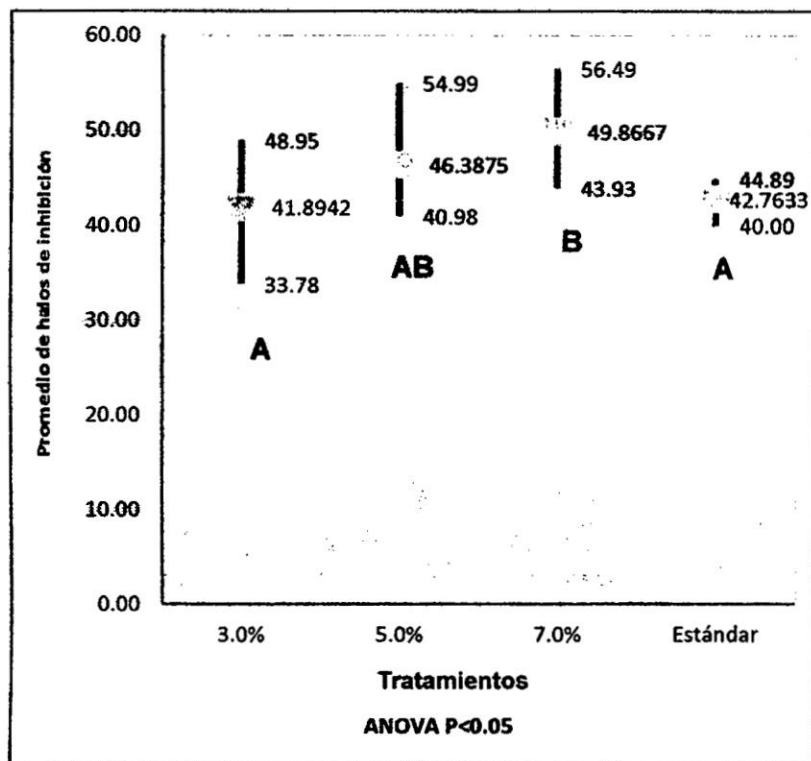


Figura 9. Prueba de comparaciones del promedio de halos de inhibición a las concentraciones 3%, 5% y 7% del cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara" y estándar frente a *Trichophyton rubrum*. Ayacucho- 2014.

Tabla 11. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara". Ayacucho 2014.

Tubos	<i>Trichophyton Rubrum</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
1	0,0700	0,0700
2	0,0359	0,0359
3	0,0175	0,0175
4	0,0875	0,0875
5	0,0437	0,0437
6	0,0218 (CMF)	0,0218
7	0,0109 (CMI)	0,0109 (CMF)
8	0,0054	0,0054 (CMI)
9	0,0027	0,0027
10	0,0013	0,0013
11	0,0006	0,0006
12	0,0003	0,0003
13	0,0001	0,0001
14	0,00008	0,00008

V. DISCUSIÓN

En nuestro país desde épocas muy remotas y ancestrales, se han utilizado con fines terapéuticos las diversas plantas medicinales que se cultivan en nuestro ámbito territorial.

En la presente investigación se buscó evaluar si el cremagel elaborado a base de extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara" a las concentraciones de 3%, 5% y 7% poseen actividad antimicótica frente a las diferentes cepas: *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum* comparándola con una crema con la misma actividad frente a estos dermatofitos.

Las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" fueron recolectadas en el distrito de Luricocha de la provincia de Huanta departamento de Ayacucho. Para la obtención del extracto atomizado de tara se sigue el protocolo descrito por Razo⁵⁷ y Fernández⁵⁸ mostrando que el extracto atomizado obtenido de *Caesalpinia spinosa* "tara" es un producto de calidad que cumple con los parámetros mencionados por Goycochea tal como se observa en la Tabla 1 teniendo gran cantidad de sólidos totales que da como principal componente entre 65 % a 70% de taninos presente en las vainas de tara.

En las características organolépticas como olor característico, sabor amargo, color beige claro y aspecto de polvo fino homogéneo, también cumplen con los estándares de calidad lo que confirma la presencia de metabolitos secundarios que demuestra la actividad a estudiar. El extracto atomizado es muy soluble en agua lo que determina la mejor extracción de sus principios activos soluble en alcohol y poco soluble en cloroformo. El pH igual a 3,5 es muy interesante ya que la acidez de este permite fijarse en proteínas. La humedad 9,7% encontrándose dentro del rango establecido por Goycochea¹⁰, determinando la estabilidad del atomizado que evita la hidrólisis de algunos metabolitos como

manifiesta Miranda⁵⁷, el porcentaje de cenizas es de 3,2% coincidiendo con los resultados que nos muestra Goycochea¹⁰.

Al analizar el tamizaje fitoquímico, se observan los diferentes metabolitos secundarios presente en el extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara" (Tabla 8) este estudio comprendió un conjunto de ensayos y técnicas, que muestran resultados cualitativos o de identificación dándonos una idea general de la composición química de la planta, desatando la presencia de taninos, lactonas, saponinas, alcaloides, flavonoides y otros metabolitos, corroborado por Narvaez⁴⁴ demostrándose que el proceso de atomizado no existe perdida de metabolitos secundarios responsable del efecto farmacológico, específicamente de los taninos.

Mariela⁴⁰ menciona que los taninos hidrolizables son característicos de dicotiledóneas. Al tratar los taninos hidrolizables con cloruro férrico (FeCl_3) aparece una coloración azul, se hidrolizan con facilidad por la acción de los ácidos, bases o enzimas, en un azúcar, un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico dependiendo del tipo de ácido que produce por la reacción se subdividen en galotaninos (ácido gálico) y elagitaninos (ácido elágico o dilactona estable del ácido hexahidroxidifénico), demostrando así que el extracto atomizado de tara esta contenido de gran cantidad de tanino de tipo hidrolizable ya que este presenta una coloración azul oscuro al reactivo FeCl_3 .

En investigaciones realizadas se encontró que los taninos y flavonoides son metabolitos, encontrados en la *Caesalpinia spinosa* que se encuentran en diferentes partes de la planta. Estos son solubles en agua, etanol, acetona y otros disolventes orgánicos, tienen actividad antidiarreica, antihemorrágico local, antihepatotóxica y antibacteriana, Huarino¹⁵ demuestra que la *caesalpinia spinosa* posee altas concentraciones de taninos.

Trillo⁵⁰ menciona que un estudio de formulación debe ir precedido del conocimiento de determinadas propiedades físicas, químicas y biofarmacéuticas del principio activo y las influencias sobre estas de los excipientes y proceso tecnológico determina las cualidades fundamentales del medicamento que son eficacia, seguridad y estabilidad.

En el presente estudio esta situación se agrava debido a la higroscopicidad inherente del extracto atomizado y a la cantidad de extracto añadido. Las medidas utilizadas para evitar estas inconvenientes es adecuar un área de trabajo, controlando el % de humedad en el medio y la presión. Una vez obtenida

la formula nos vamos a la realización de varios pilotos, teniendo en cuenta principalmente las características fisicoquímicas del tanino como solubilidad, carácter lipófilo u hidrófobo se concluye con la formulación, realizando los controles respectivos tal como se muestra en la Tabla 7.

En la Tabla 9 se presenta los resultados de las características organolépticas del cremagel, en ella se aprecia que el color del cremagel depende de la concentración de extracto atomizado de la *Caesalpinia spinosa* "tara". La crema base es de un color blanco nieve, el gel base es translucido, observándose que el cremagel al 3.0 % presenta un color beige claro, el cremagel al 5,0 % un color beige y el cremagel al 7,0 % un color beige oscuro. El cremagel tiene un olor suigüeneris característico al extracto atomizado de tara debido al olor característico de esta planta, un sabor ligeramente amargo debido a la presencia de los excipientes. Esta forma farmacéutica semisólida presenta un aspecto homogéneo la que nos demuestran su buena estabilidad.

En el misma tabla se muestran los resultados del pH del cremagel; el cremagel base tiene un pH de ligeramente ácido, el cremagel al 3,0% un pH de 5,90 ácida, el cremagel al 5,0 % un pH de 5,30 ácida y el cremagel al 7,0 % un pH de 5,04 siendo mas ácida. El ungüento hidrófilo denominado también crema de emulsión O/W aniónicas son inestables a un pH inferior a 5,0 como describe Trillo⁵⁰ por tanto el pH de las cremas están dentro de las especificaciones que oscilan entre 5,0 a 7,5 tal como menciona en sus procedimientos el Laboratorio Farmacéutico Markos⁶⁴. Es necesario tener en cuenta el pH de la piel que oscila entre 4,9 para los hombres y 5,0 para las mujeres como menciona Orlandi, cuando el pH de la superficie es más alcalino, se produce prurito y dermatitis de carácter inespecífico, las que se evitan con la formulación de cremas con pH cercano a la piel, por tanto la crema 7,0 % se asemejan al pH de la piel.

En la Tabla 10, se reporta el tipo de emulsión del cremagel, es homogénea en agua y heterogénea en alcohol etílico, comprobando que es una emulsión O/W. El cremagel en estudio según Vila⁵³ se les denomina emulsiones O/W, formas farmacéuticas constituidas por dos fases, una lipófila y otra acuosa, debido a que la fase externa es de naturaleza acuosa por la presencia en su composición de emulsificantes tipo O/W, en este caso es la cera Lanette N. Por tanto hay una necesidad de ser evaluada si la forma farmacéutica semisólida en estudio corresponde a lo descrito anteriormente, en la Tabla 9 se presenta un método para determinar el tipo de emulsión; según el método por dilución las cremas en

estudio son solubles en agua y presentan un aspecto homogéneo, es decir si presenta una dispersión homogénea en agua la fase externa es acuosa, decimos entonces que es una emulsión O/W. Por tanto decimos que las cremas son emulsiones O/W.

En la Figura 4, se presentan los resultados de la prueba de extensibilidad del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de tara. En un estudio de formulación de formas farmacéuticas semisólidas es necesario evaluar el comportamiento reológico debido a que las propiedades reológicas tienen una gran influencia en la estabilidad y en la textura de los mismos como menciona. En este estudio se considera el índice de extensibilidad que proporciona una medida del umbral de deformación del sistema. Podemos observar que la extensibilidad es aproximadamente proporcional al peso aplicado (a mayor peso, mayor extensibilidad), llegando a un punto donde al aplicar mayor peso la extensibilidad es constante. En la Figura 4 se muestra que el cremagel al 7,0% tiene mayor extensibilidad aplicando 500 g de peso, igual a $72,43 \pm 5,95 \text{ cm}^2$, seguido del cremagel 5,0 % con $71,64 \pm 6,50 \text{ cm}^2$, cremagel 3,0 % con $63,71 \pm 6,47 \text{ cm}^2$ y el cremagel base con $65,87 \pm 6,78 \text{ cm}^2$, estos comportamientos puede ser debido a que las cuatro formulaciones tienen diferentes cantidades de agua.

En la Figura 5 se muestra los promedios de los halos de inhibición del cremagel a las diferentes concentraciones 3%, 5% y 7% frente a las tres cepas: *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum*; observando que el cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara" tiene actividad frente a 2 tipos de cepas *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*, pero no presenta actividad frente al género *Epidermophyton floccosum*. Las hifas de *Epidermophyton floccosum* se caracterizan por estructuras alargadas, las paredes de *Epidermophyton floccosum* son bastante similares a las de *Neurospora* que consta de dos partes distintas: una capa exterior delgada, denso en electrones, la lámina densa y una capa fibrilar interior más amplia, presentando macroconidios y ningún microconidio.⁵⁶

En la Figura 6 se observa las características del cremagel de extracto atomizado de tara a las concentraciones 3%, 5% y 7% que mostrando promedios de halos de inhibición crecientes de 41,8942 para el cremagel al 3%, 46,3885 para el cremagel al 5 % y para el cremagel al 7% 49,8667, mostrando mejor sensibilidad frente a *Trichophyton rubrum* a la concentración de 7% con un promedio de halo

de 49,8667 mm, siendo este valor mayor a la Terbinafina que presenta un halo de inhibición de 42,7633 habiendo diferencia entre los tratamientos ensayados ($p < 0,05$) a un nivel de confianza del 95 % (Anexo 9), Kondo muestra el efecto antibacteriano del extracto alcohólico en diferentes concentraciones de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae* usando inóculos estandarizados con el Nefelometro de McFarland N° 0,5 encontrándose que el promedio de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos con las diferentes concentraciones ensayadas varía de 34,11 a 43,55 mm. A medida que se aumenta la concentración del extracto alcohólico de *C. spinosa* se obtiene mayor diámetro de halo de inhibición.

Huarino¹⁵, encontró halos de inhibición mayores a 9 mm con diámetros promedios que varían entre 12,32 a 17,32 mm según aumente la concentración del extracto de *C. spinosa*, se decidió comparar con un control positivo (Clorhexidina al 0,12%) que generalmente se usa como antiséptico oral, y un control negativo (alcohol 70°) encontrándose que los halos de inhibición obtenidos por el extracto de *Caesalpinia spinosa* fueron mayores que los obtenidos por los grupos controles (Clorhexidina 0,12% y alcohol 70°).

En cuanto al fármaco utilizado se pudo demostrar que la Terbinafina utilizada como control, tiene una buena sensibilidad a los dermatofitos esto se puede lo demuestra Colella⁶⁵ en donde menciona que la mayor sensibilidad a los dermatofitos fue la Terbinafina, seguida por la griseofulvina e itroconazol. Sin embargo, se requieren más estudios en los cuales se utilice los mismos parámetros que se usaron en este trabajo ya que no se encontró mayor referencia con respecto a lo mencionado. Además, se necesitan estudios *in vitro* e *in vivo*, indispensables para la determinación de la actividad dándose una respuesta clínica frente a un tratamiento

En la Figura 8 se observa que los halos de inhibición frente al dermatofito *Trichophyton mentagrophytes* a las concentraciones 3,0 %, 5 %, 7 % y estándar terbinafina con halos de inhibición promedios 26,1489; 26,0600; 26,8591 y 29,6613 no presentan diferencia estadísticamente (Anexo 13) ya que a cualquier concentración utilizada del cremagel se obtendría los mismo resultados.

En la Figura 9 se observa que los halos de inhibición frente al dermatofito *Trichophyton rubrum* del cremagel a las concentraciones de 3%, 5% y el estándar con halos de inhibición promedios 41,8942; 46,3875 y 42,7633 mm respectivamente son estadísticamente iguales, pero que hay diferencia

estadística frente al cremagel de extracto atomizado de tara al 7% que presenta un promedio de halo de inhibición de 49,8667 mm, también se observa que el cremagel al 5% y al 7% son estadísticamente iguales (Anexo 14).

VI. CONCLUSIONES

1. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto atomizado de la vaina de la *Caesalpinia spinosa* "tara", fueron catequinas, flavonoides, fenoles y taninos.
2. El cremagel elaborado a base de extracto atomizado de la vaina de la *Caesalpinia spinosa* "tara" tiene actividad antimicótica frente a cepas de *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*, pero no tiene actividad frente al *Epidermophyton floccosum*.
3. El cremagel elaborado a base del extracto atomizado de la vaina de la *Caesalpinia spinosa* "tara" al 7% presentó mejor actividad con un halo de inhibición de 49,8667 mm frente a *Trichophyton rubrum* mientras que frente al *Trichophyton mentagrophytes* no se apreció diferencias en cuanto a los halos de inhibición obtenidos al 3%, 5%, 7% y Terbinafina teniendo estadísticamente la misma actividad antimicótica.
4. La concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de la vaina de la *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos es de 1% y 2% respectivamente frente a *Trichophyton rubrum*, mientras que frente a *Trichophyton mentagrophytes* presenta una CMI 0,05 % y una CMF de 1 % observándose que el cremagel de tara tiene buena actividad a mínimas concentraciones.
5. El cremagel elaborado al 3,0 % presenta un color beige claro, el cremgel al 5,0 % un color beige y el cremagel al 7,0 % un color beige oscuro, tienen un pH de 5,90; 5,30 y 5,04 respectivamente.

VII.RECOMENDACIONES

1. Realizar el estudio de estabilidad del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" la concentración de 3,0 %, 5,0 % y 7,0 %, su posterior estudio clínico las cuales nos permitirá contribuir a una alternativa en el tratamiento contra las tiñas y mejorar la calidad de vida de los pacientes.
2. Realizar un estudio comparativo con un fármaco del mismo grupo farmacológico.
3. Realizar estudios científicos que confirmen las diversas propiedades medicinales atribuidas al extracto atomizado de la vaina de la *Caesalpinia spinosa* "tara".
4. Llevar todos los estudios realizados más allá de extractos acuosos y/o hidroalcohólicos y tratar de industrializarlo, ya que abre puertas a otros campos para poder realizar diferentes formas farmacéuticas que sean mejor biodisponibles para un eficaz tratamiento farmacológico.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sahm D. Weissfeld A. Diagnóstico Microbiológico. 12°ed. Argentina Editorial Médica Panamericana S.A. 2009
2. Allevato M. Negroni R. Galimberti R. Antifúngicos Ayer, Hoy y Mañana. Educación Continua. (Revista en internet) 2007 (acceso Enero 2014) 30(8). Disponible en: http://www.atdermae.com/pdfs/atd_30_01_02.pdf
3. Dermatofitosis. Tiña, Tinia y Dermatomicosis Instituto For Internacional Cooperación In Animal Biologics. Iowa State University Mayo 2005.
4. Benedito T, Vallecidos M. *Tinea pedis*. fml Revista de Medicina de la Familia y Atención Primaria (Revista en internet) 2013)(acceso a internet 02 de diciembre de 2013) 17(8) disponible en: http://www.revistafml.es/upload/ficheros/noticias/201302/1708_im__tia_ped is.pdf
5. Arango M. Sánchez B. Productos Naturales con Actividad Antimicótica. Rev. Española Quimioterápica Prou Science S.A. (revista de internet) Diciembre 2004 (acceso 17 de noviembre del 2013) 7(2). Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/17/4/325.pdf>
6. Cabañes J, Identificación de hongos dermatofitos. Revista Liberoamericana de micología (Revista en internet) 2001(acceso a internet 30 de noviembre del 2013) 11(3) disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo12.pdf>.
7. Rodríguez J, Rodero L, Córdoba S, Cuenca M. III Curso Hispano-Argentino de Micología Médica Determinación de la Resistencia a los. Antifúngicos en el Laboratorio. 2000. pp.10
8. Cea R. Célula Inventa Química y Farmacia. Célula inventa química y farmacia dirección de innovación y calidad. (revista de internet) setiembre 2013 (acceso 20 de agosto del 2014) 1(8) <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/4591/Publicaci%C3%B3n%20de%20Fitof%C3%A1rmacos.pdf>
9. Haddad M, Fernández I, Actividad Antifúngica de Cuatro Plantas Usadas en la Medicina Tradicional Peruana. Aislamiento de 3'- formil - 2',4',6' - Trihidroxidihidrochalcona, Principio Activo de *Psidium acutangulum* (Revista en internet) 20112013 (acceso a internet 02 de diciembre del 2013) 77(3) disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v77n3/a05v77n3.pdf>
10. Goycochea R. Evaluación de taninos y goma del fruto de la tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze provenientes de las lomas de Atiquipa, Arequipa - Perú. Facultad de Ciencias Forstales. Universidad La Molina. 2010
11. Ferreira J, Graças M, Estevan P. Inhibitory effect of *Caesalpinia spinosa* leaflets crude extract on *Fusarium solani* and *Phoma tarda*. Departamento de Química, Universida de Federal de Lavras (UFLa), Brasil. 2005. 187-12.
12. Ananca E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Fac. Ciencias Médicas Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna. 2009.
13. Liu H, Lengua L. Evaluación de la Actividad Antibacteriana in vitro de los Extractos de *Caesalpinia spinosa* "tara" y *Eucalyptus sp.* "Eucalipto"

- Facultad de Medicina Humana de la Universidad de san Martín de Porres, Lima 2007
14. Kondo K, Takaishi Y, Shibata H, Higuti T. Ilsmrs (Intensifier of beta- Lactam Susceptibility in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) from Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. J Phytotherapy And Phytopharmacolog.2006.
 15. Huarino M. Efecto antibacteriano de la *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival mixta. (Tesis de la Facultad de Otdontología UNMSM) Lima Perú (s.n.) 2011.
 16. Arango M. Sánchez B. Productos Naturales con Actividad Antimicótica. Rev. Española Quimioterápica, Prou Science S.A. (revista de internet) 2004 diciembre (acceso 17 de noviembre del 2013) 7(2). Disponible en:<http://www.seq.es/seq/0214-3429/17/4/325.pdf>
 17. Herranz I. Antibióticos Naturales, (revista de internet) 2010 octubre (acceso 27 de noviembre)3(1). Disponible en: <http://isabelaherranz.blogspot.com/2010/10/antibioticos-naturales.html>.
 18. Cañigüeral S. Dellaccassa E. Plantas medicinales y fitoterapia: ¿indicadores de dependencia o factores de desarrollo? unidad de farmacognosia, Farmacología, Universidad de Barcelona (revista de internet) 2003 Enero-Marzo (acceso 20 de noviembre del 2013) 22(1).
 19. Greulach A, Adams J. Las plantas: Introducción a la botánica moderna. 3ra ed. México DF: LIMUSA. 2000: 60.
 20. Torres J. Fitoterapia. Centro de medicina biológica, Managua, Nicaragua, 2003.
 21. Vanaclocha B. Cañigüeral S. Fitoterapia Vademécum de Prescripción. 4ta Ed. Barcelona. Edit. Mason S.A. 2006.
 22. Gregori Valdez B.S. Estructura y Actividad de los Antifunjos. Rev. Cubana Farm. (Revista de internet) 2005 (acceso 23 de noviembre del 2013) 39 (2) disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol39_2_05/far12205.pdf.
 23. Rivas A. Cardona N. Antimicóticos de uso sistémico ¿Con qué opciones terapéuticas contamos? CES Medicina (Revista en internet) 2009 Enero-Junio (acceso 12 de setiembre del 2014), 61-76, Universidad CES Colombia
Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/2611/261121006007.pdf>
 24. Avellato M. Negroni R. Antifungicos ayer, hoy y mañana, Educación Continua (revista de internet) 2007(acceso a internet 20 de noviembre del 2013) 30(8) disponible en: http://www.atdermae.com/pdfs/atd_30_01_02.pdf
 25. Carrillo A. Tur C. Antifungicos disponibles para el tratamiento de las micosis ungueales Rev Iberoam Micol. (revista en internet) 2010 Enero (acceso a internet 20 de setiembre del 2014);27(2) Disponible en : <http://www.reviberoammicol.com/2010-27/049056.pdf>
 26. Lura C. Gonzales M. Introducción al estudio de Micológica. 2da Ed. Santa Fe –Argentina. Edit. Universidad Nacional del editorial Santa Fe. 2003.
 27. Erchiga V. Aspectos novedosos en la epidemiología de las micosis superficiales en España. Rev. Internacional de dermatol Dermacoms (revista de internet) 2002 (Acceso a internet 2 de diciembre del 2013) disponible en: <http://www.elmedicointeractivo.com/ap1/emiold/publicaciones/dermacosmetica2002/8/429-430.pdf>.
 28. Sánchez L. Matos R. Infecciones micóticas superficiales. Dermatología Peruana. (Revista de internet) 2009 Agosto (acceso a internet 2 de

- diciembre del 2013) 19(3) disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v19_n3/pdf/a09v19n3.pdf.
29. Pérez E. Aspectos Actuales sobre las Dermatofitosis y sus Agentes Etiológicos. Biosalud (Revista de Internet) 2005 Enero-Diciembre acceso a internet 21 de noviembre del 2013) 121(1) disponible en:
<http://www.uv.mx/personal/elodominguez/files/2012/08/Aspectos.pdf>
 30. Arango M. Castañeda E. Micosis Humanas, Procedimientos Diagnósticos. Exámenes Directos. Corporación para Investigaciones Biológicas, 2da Ed. Medellín- Colombia. Edit. Quebedor World Bogotá S.A.
 31. Vilata Corel J.J. Micosis Cutáneas. Dermatomicosis, 1ra ed. Madrid. Edit. Medica Panamericana S.A. 2005.
 32. Velez V.Rodas M. Dermatología. Fundamentos de Medicina. 6taEd. Edit. Bogotá. Ed. Corporación para las Investigaciones Biológicas. 2006.
 33. Puig L. Vilarasa E. Tiña interdigital de los pies (pie de Atleta): Su diagnóstico y sus últimos avances en su tratamiento. Sistema Nacional de Salud (Revista de internet) 2008 Madrid (Acceso a internet el 3 de diciembre del 2013) 38(26) disponible en:
<http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/pieatleta.pdf>
 34. Arlete Z. Ramirez R. Micología : Trichophyton Parasitología (Artículo en internet)2010 Noviembre (Acceso a internet el 20 de setiembre del 2014) 2(5)
 35. Sánchez L. Matos R. Infecciones Micóticas Superficiales. Rev. Dermatología Peruana (Revista de Internet) 2009 (Acceso a internet 20 de diciembre del 2013)19(3) disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v19_n3/pdf/a09v19n3.pdf
 36. Vásquez A. Micosis en El Salvador. Un problema de Salud Pública. Propiedades antimicóticas In Vitro de una Planta Natural *Allium sativum* (XX27). Universidad De El Salvador Universidad De Maastrich Holanda Facultad De Medicina.2001
 37. Salazar H. Carbajal P. Dermatofitosis por *Trichophyton rubrum*. Experiencia de 10 años (1996-2005) en un servicio de dermatología de un hospital general de la Ciudad de México.
 38. Koneman j. Diagnóstico Microbiológico 6ta. Ed. Madrid 2006. Edit. Médica Panamericana S.A.
 39. Fernandez R. Segundo C, Micosis. Determinación de las variedades de *Trichophyton mentagrophytes* en10 casos de dermatofitosis de Paraguay. Rev. Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal [revista en internet] 2002 junio [Acceso a internet 20 de diciembre del 2013] 45(41) disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57627203>
 40. Escobar, M. Nuevos antimicóticos y su uso en dermatología. Servicio en dermatología. Universidad CES .Medellín. Colombia. 2004.
 41. Sinski J, Avermaete D. Analysis of Tests Used to Differentiate *Trichophyton rubrum* from *Trichophyton mentagrophytes*, Journal of Clinical Microbiology (Revista de Internet) 2000 (Acceso a internet 20 de diciembre del 2013)13(1) disponible en: <http://journals.asm.org/site/misc/reprints.xhtml>
 42. Aristegui B. *Epidermophyton floccosum* (Harz) Langeron et Milochevitch, 2008
 43. Quicaña E. Características del follaje, número de cromosomas y contenido de taninos en seis variedades de tara (*Caesalpinia spinosa*). 2009;
 44. Narváez A, "Las poblaciones naturales de la tara (*Caesalpinia spinosa*) en el Ecuador: Una aproximación al conocimiento de la diversidad genética y

- el contenido de taninos por medio de estudios moleculares y bioquímicos” (revista de internet) 2010 enero (acceso 20 de noviembre del 2013) 36(15).disponible en:
http://asocam.net/portal/sites/default/files/publicaciones/archivos/BIBLIOTECA_0064.pdf.
45. Siccha A, Lock O, Molina M. Determinación Cuantitativa de Galactomananos en las Gomas de Tara, Charan y Una de Gato, por Cromatografía de Gases. Bol SocQuim del Peru. 1994; 60:39-43. 2006; 13:209-212
 46. Morales V. Catálogo de plantas medicinales estudiadas en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM (período: 1924 - 1986). Revista de la Facultad de Farmacia y Bioquímica 2010; 34:132.
 47. Aragon S. Benedi J. Antimicóticos dermatológicos, Farmacia Profesional. Rev. El Sevier: Ciencia y Economía (revista de internet) 2003. (acceso 20 de noviembre del 2013) 49(7) disponible en:
<http://www.elsevierciencia.com/es/revista/farmacia-profesional-3/articulo/antimicoticos-dermatologicos-13064579>
 48. Torres J. Alonso M. Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos Tropical and Subtropical Agroecosystems Universidad Autonoma de Yucatan (revista en internet) 2008 (acceso 18 de setiembre del 2014) disponible en :
<http://www.redalyc.org/pdf/939/93911227008.pdf>
 49. Domínguez, A. Catedrático de Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Salamanca, Revista: Estar bien, Edición N^o 8, Octubre de 2008(71).
 50. Trillo F. Tratado de Farmacia Galénica. Madrid: Ed. Luzán 5 S.A; 1993.
 51. Hellman J. Farmacotécnica teórica y práctica. México: Ed. Continental; 1982
 52. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Dirección General de Control de Insumos para la Salud – Secretaria de Salud. México.5ta edición.1991.
 53. Vila J. Tecnología Farmacéutica. Volumen II (Formas Farmacéuticas). 1ra Reimpresión. Edit. Síntesis S.A. Madrid 2001
 54. Cáceres, A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. editorial Universitaria.1995
 55. Rafael C. Plantas medicinales con actividad antiinfecciosa y antiparasitaria. Servicio de Microbiología. Facultad de Farmacia –Universidad Complutense de Madrid.2012
 56. Alnicolsa. Productos agroindustriales de exportación. Todo sobre la tara (acceso a internet 03 de enero del 2014) disponible en :
<http://taninos.tripod.com/>
 57. Razo E. Diseño de una planta piloto para la industrialización de stevia en la Comunidad Cueva de los Monos, Canton Sacha, Provincia de Orellana [Tesis] Quito: Facultad de ingeniería Química y Agroindustria de la Escuela Politecnica Nacional. 2011.
 58. Fernández A. Figueroa M. Laboratorio de Operaciones Unitarias II. “Secado por Atomización de la Tara”. Universidad Nacional de Ingeniería.2014 <http://es.scribd.com/doc/231769117/SECADO>
 59. Miranda M. “Métodos de análisis de drogas y Extractos”.Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos-Universidad de la Habana Habana-Cuba.2002
 60. Miranda M., Cuellar A. Manual de prácticas de Laboratorio: “Farmacognosia y Productos Naturales” Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana Habana-Cuba.200
 61. Alvarado V. Plantas medicinales: efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erithroxylum novo granatense*, *Plowman var Truxillense* y *Camelia*

- sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. Revista científica odontología Sanmarquina: 2010; 13(2): 21-25.
62. USP 35. Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario nacional. Estados Unidos de América: 2012.
 63. James H. Electro microscopic observations of *Epidermophyton floccosum*. The journal of investigative dermatology (Acceso a internet 05 de abril del 2014).
 64. Laboratorios Farmacéuticos Markos. Procedimiento de Operación Estándar; Fabricación de Productos semisólidos No Estériles. Lima. 2004
Colella M. Castro M et. Al Suceptibilidad. antifungica en dermatofitos Rev. Kasmera, Sección de Micología Médica, Instituto de Medicina Tropical, Facultad de Medicina. UCV 32 (2) 85-92 julio- Diciembre 2006.
 65. James H. Wolly H. Las observaciones de microscopía electrónica del *Epidermophyton floccosum* El Journal of Investigative Dermatology. Departamento de Zoología de la Universidad Estatal de Louisiana 1964.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Certificado de identificación de la *Caesalpinia spinosa* "tara". Ayacucho
-2014



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Flor de María, LÓPEZ CHAUPÍN,
ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.
Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación
de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

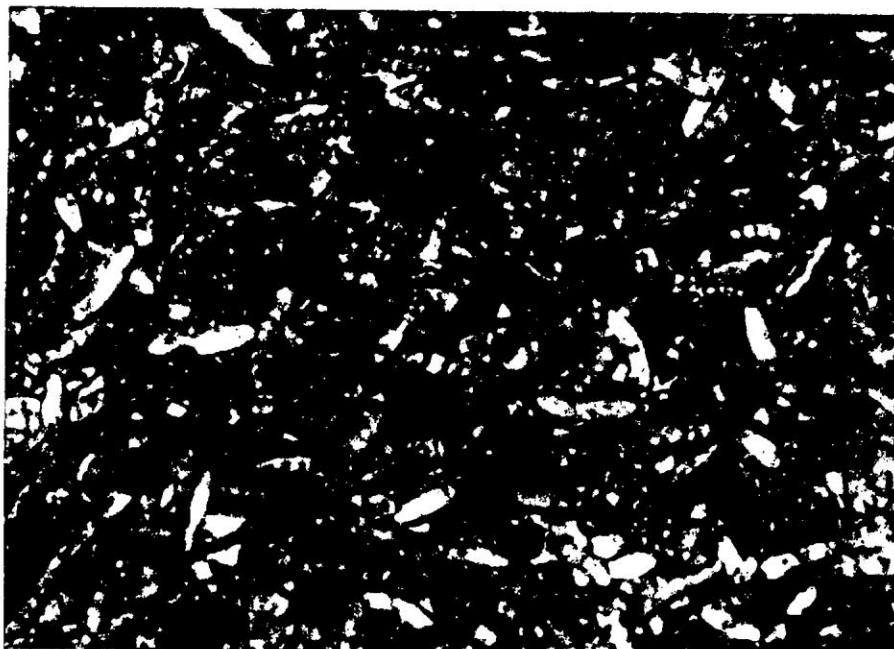
DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	FABALES
FAMILIA	:	CAESALPINACEAE
GENERO	:	Caesalpinia
ESPECIE	:	<i>Caesalpinia spinosa</i> (Molina) Kuntze
N.V.	:	"tara"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada
para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 19 de Marzo del 2014

HERBARIUM HUAMANGENSIS
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
[Firma]
Dra. Luzmila Rodríguez
JEFE

Anexo 2. Fotografía de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara". Ayacucho-2014

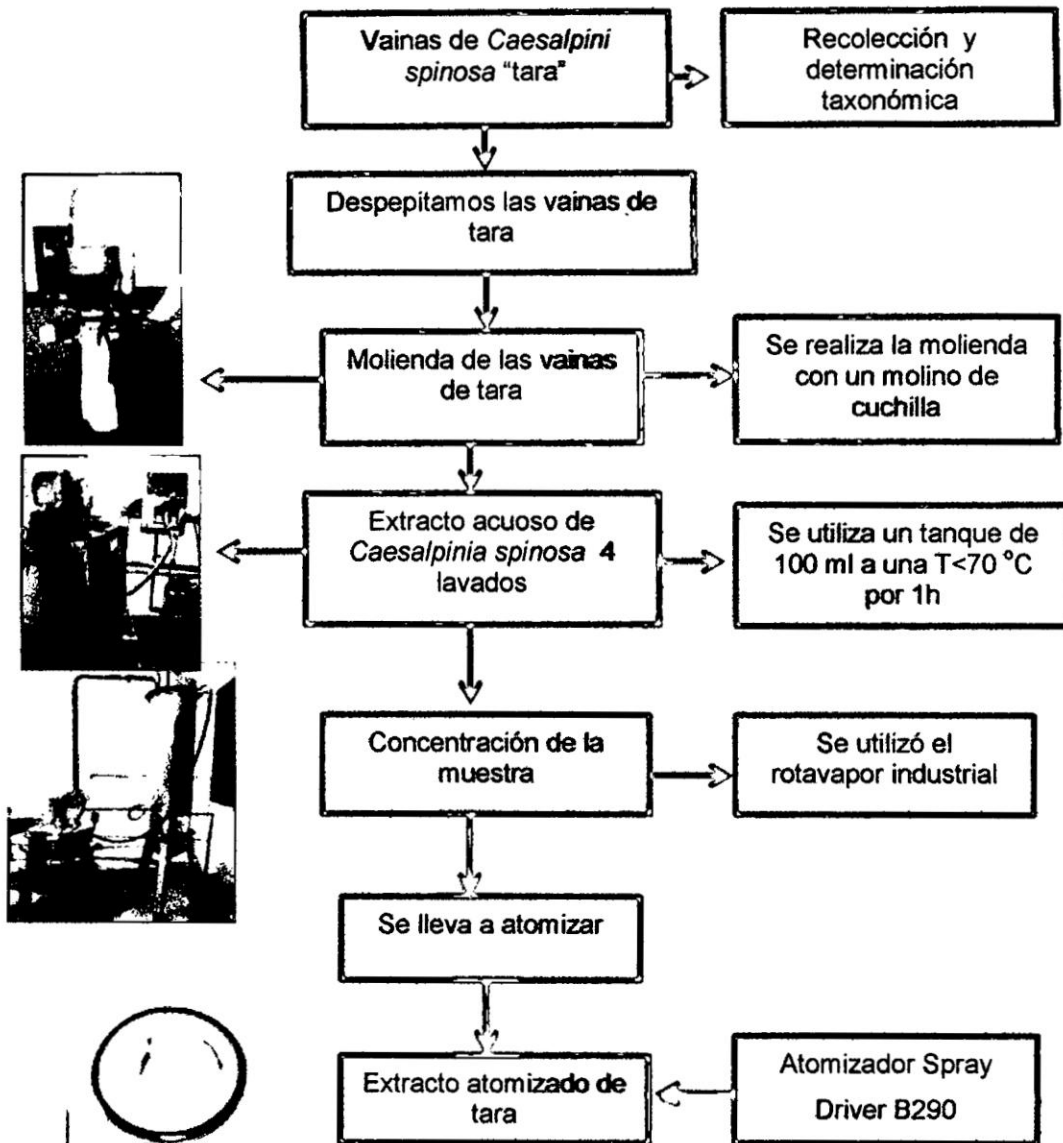


Vainas de tara

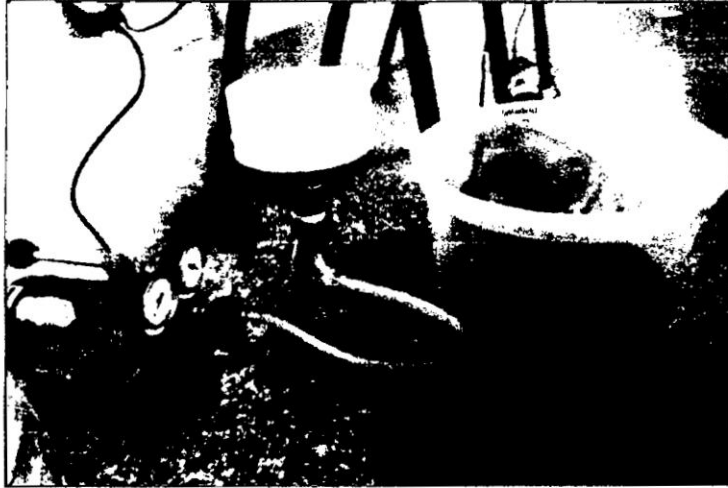


Vainas despepitadas de tara

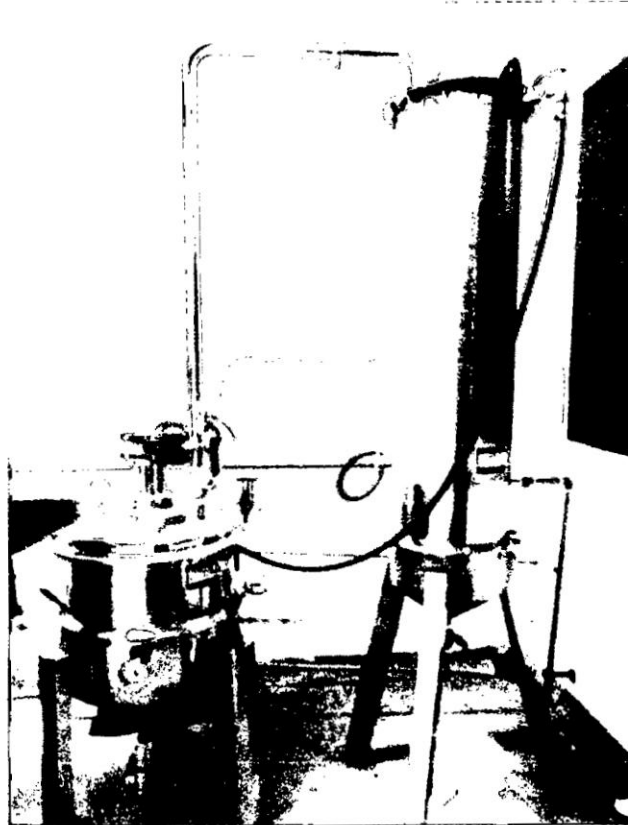
Anexo 3. Concentración del polvo de *Caesalpinia spinosa* "tara" realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – 2014.



Anexo 4. Filtrado y concentración del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* "tara" realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – 2014.

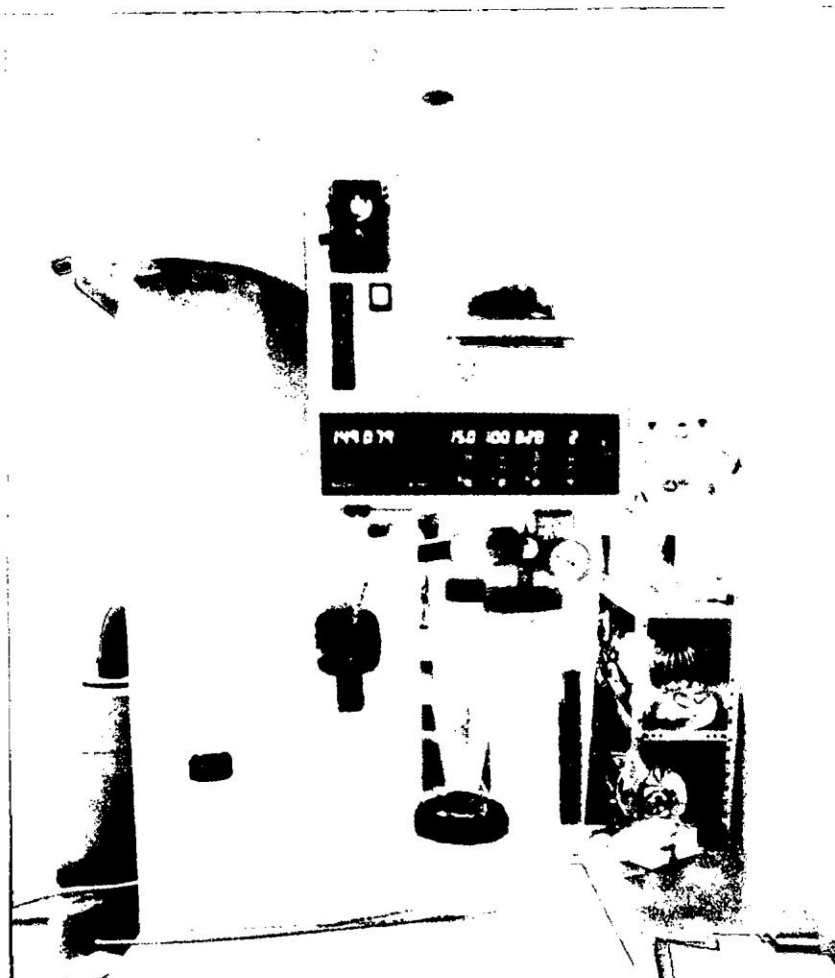


Filtrado del extracto de tara utilizando el embudo de buchner

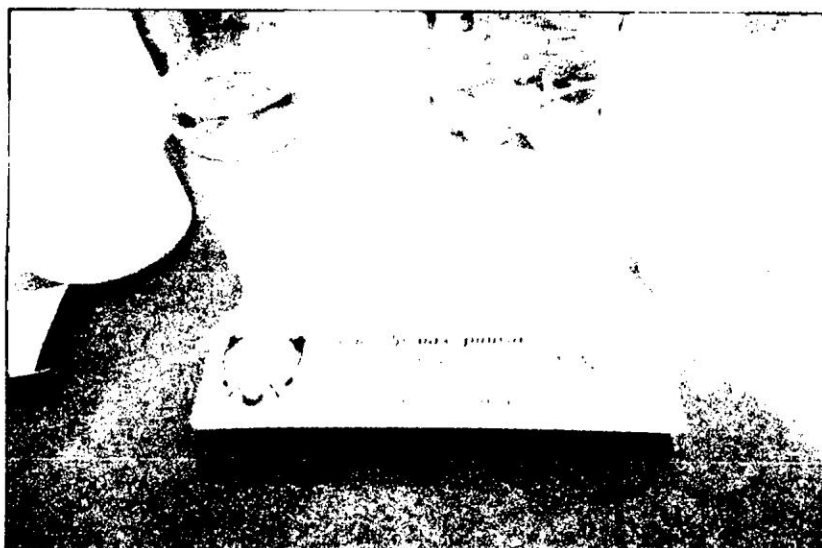


Concentración del extracto con el rotavapor industrial

Anexo 5. Fotografía del atomizador Spray Driver B290 del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos. Ayacucho - 2014



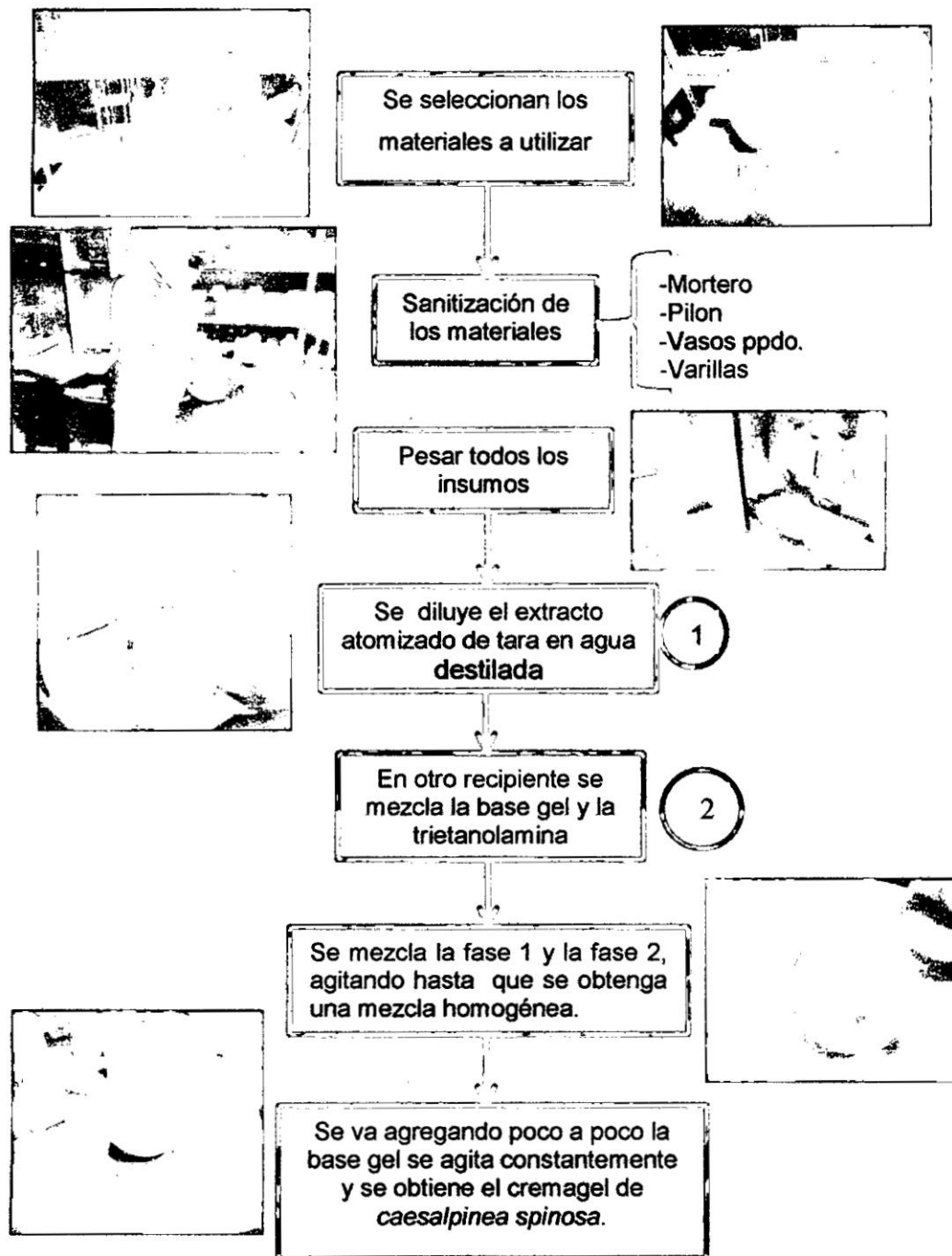
Anexo 6 .Extracto atomizado de *Caesalpinea spinosa* "tara" realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – 2014.



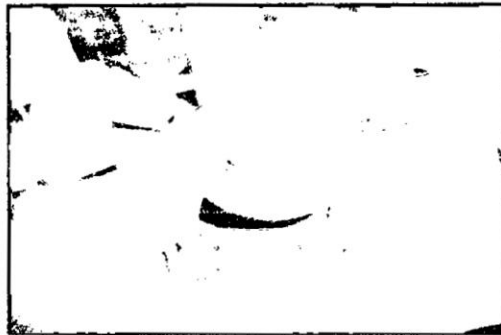
Anexo 7. Tamizaje Fitoquímico realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – 2014.



Anexo 8. Formulación del Cremagel elaborado a base del extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara" realizado en la Farmacia MASPHERMA especializado en preparados Magistrales. Ayacucho – 2014.



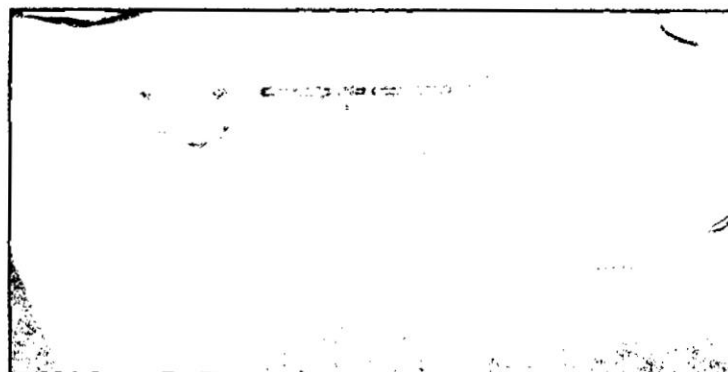
Anexo 9. Producto terminado realizado en el laboratorio de la Farmacia MASPHERMA especializado en preparados farmacéuticos. Ayacucho – 2014.



Producto terminado

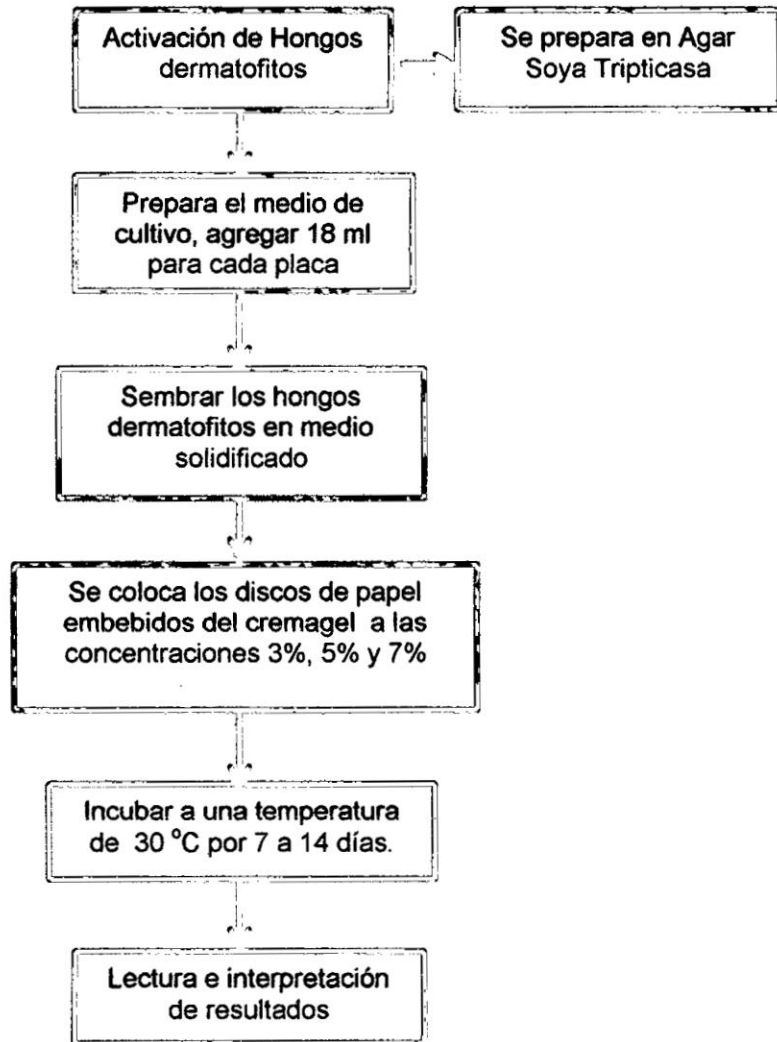


Envasado del cremagel



Rotulado del cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara"

Anexo 10. Prueba de sensibilidad por Difusión en Agar realizado en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho – 2014.



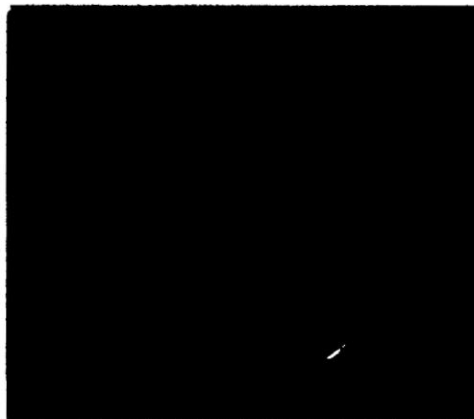
Anexo 11. Halos de inhibición del cremagel elaborado base de extracto atomizado de *Caesalpinea spinosa* "tara" realizado en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho – 2014.



Trichophyton mentagrophytes

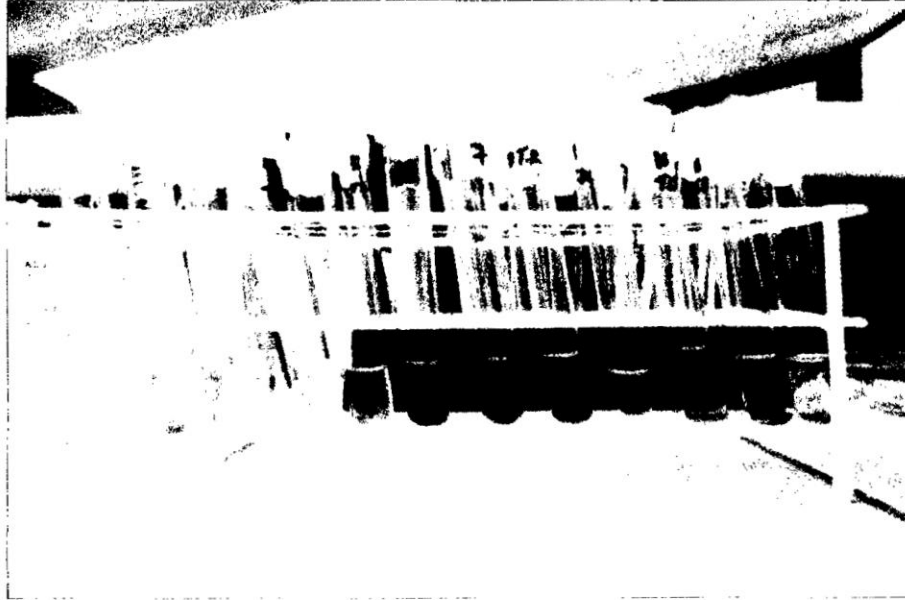


Epidermophyton floccosum

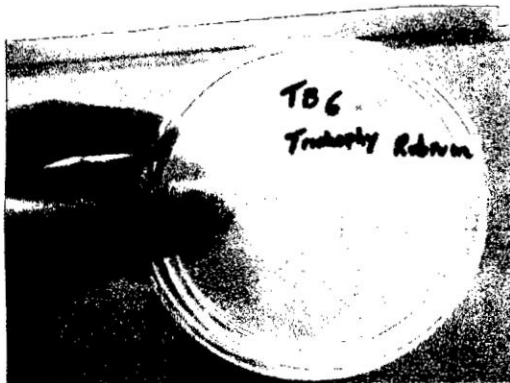


Trichophyton rubrum

Anexo 12. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) realizado en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho – 2014.



Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)



Concentración mínima fungicida (CMF) del *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*.

Anexo 13. Prueba de Comparaciones del promedio de los halos de inhibición de acuerdo a las concentraciones frente a *Trichophyton rubrum*. Ayacucho - 2014

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	413,325	3	137,775	7,240	,001
Intra-grupos	666,057	35	19,030		
Total	1079,382	38			

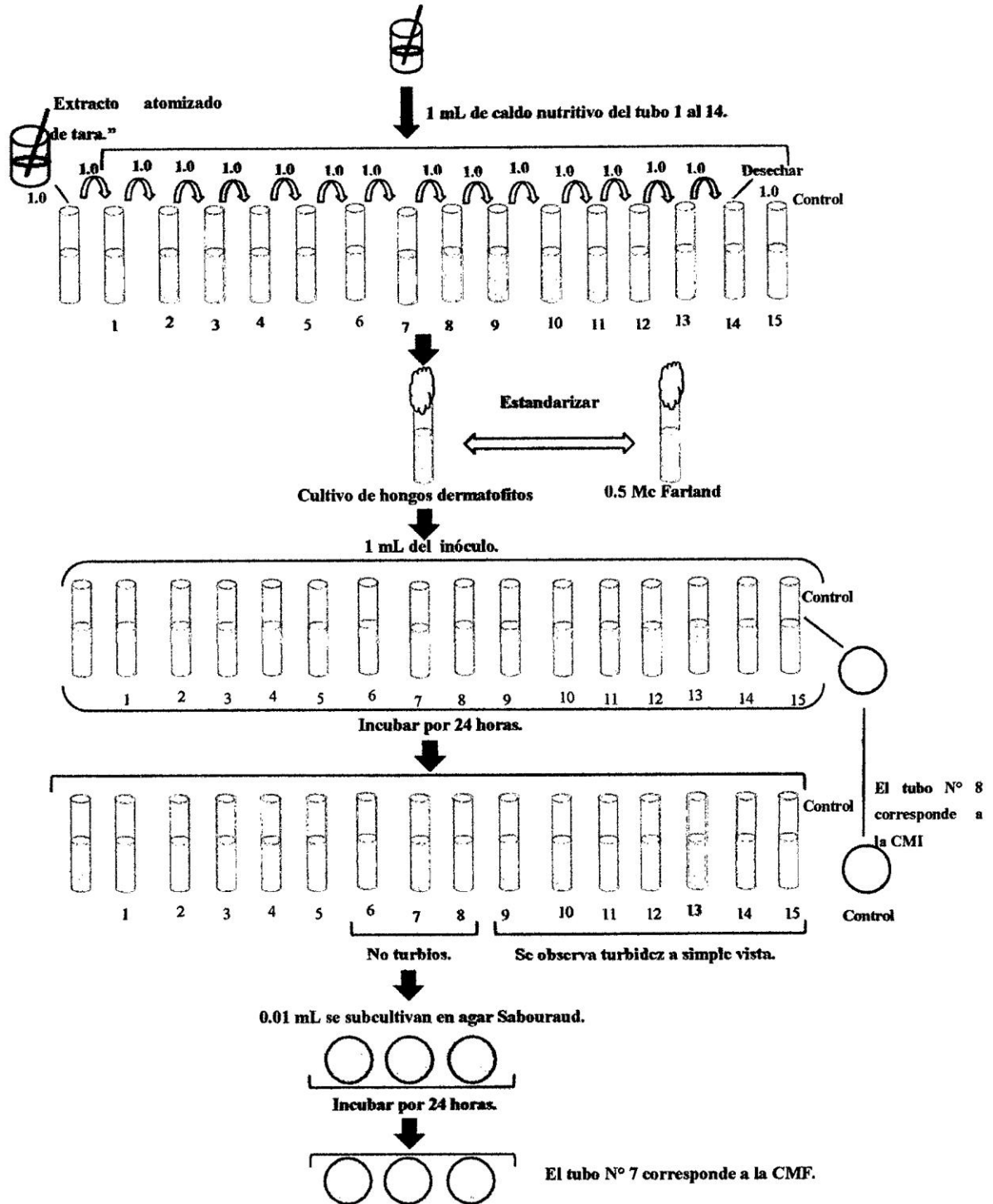
TUKEY			
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
Crema 3%	12	41,8942	
Estándar	3	42,7633	
Crema 5%	12	46,3875	46,3875
Crema 7%	12		49,8667
Sig.		,244	,462

Anexo 14. Prueba de comparaciones del promedio de los halos de inhibición de acuerdo a las diferentes concentraciones frente a *Trichophyton mentagrophytes*.

Ayacucho - 2014

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	23,188	3	7,729	,873	,467
Intra-grupos	238,919	27	8,849		
Total	262,107	30			

Anexo 15. Esquema del procedimiento de la determinación de la CMI Y CMF



Anexo 16. Matriz de Consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEORICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
Actividad antimicótica del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" frente a dermatofitos, Ayacucho 2013.	¿Cuál es la actividad antimicótica del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" frente a dermatofitos?	<p>Objetivo General: Evaluar la actividad antimicótica del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" frente a dermatofitos.</p> <p>Objetivo Especifico:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Identificación fitoquímica del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara". • Determinar la actividad antimicótica del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" frente a dermatofitos. • Determinar la concentración mínima inhibitoria del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" frente a dermatofitos. • Evaluación de las características fisicoquímicas del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara". 	<p>1. Antecedentes: Ferreira, en el trabajo de investigación titulado: "Efecto inhibidor de <i>Caesalpinia spinosa</i> folíolos extracto crudo en <i>Fusarium solani</i> y <i>Tardecophoma</i>". La reducción del crecimiento micelial aumentó proporcionalmente al aumento de la extracto de la planta.</p> <p>2. Generalidades: Antimicóticos naturales: La creciente resistencia de las bacterias a los antibióticos químicos nos obliga a buscar otros remedios que nos ayuden a combatir eficazmente a los gérmenes que nos acechan. Son muchas las alternativas naturales que tenemos a nuestro alcance. (Herranz, 2010).</p> <p>Tinea pedis: Una de las micosis más frecuentes en la práctica diaria es probablemente la tinea pedis, esta afección, es conocida popularmente por un nombre curioso: Pie de Atleta (Vilata, 2005).</p> <p>Trichophyton rubrum <i>Trichophyton rubrum</i> es el agente causal más frecuente en tías del cuerpo, de la ingle, de los pies, así como de onicomicosis. (Salazar, 2005).</p> <p>Caesalpinia spinosa:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Origen • Composición • Composición química 	El cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara", tiene actividad antimicótica frente a dermatofitos.	<p>Variable Independiente:</p> <p>El cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara".</p> <p>Indicador: Concentraciones de 3,0%; 5,0%; 7,0%</p> <p>Variable Dependiente:</p> <p>Efecto antimicótico</p> <p>Indicador: (Halos de Inhibición)</p> <p>Medida del área en mm² de actividad antimicótica.</p>	<p>Tipo de estudio: básico Nivel de estudio: Experimental Diseño muestral: Muestra: 5,0 kg de la vaina seca de <i>caesalpinia spinosa</i> "tara" recolectadas en el distrito de Luricocha que crece a una altura de 2 627 m.s.n.m. una parte de la planta recolectada se llevara al Herbarium Huamangensis para su identificación y clasificación botánica. Unidad experimental: Cepas de cultivo de <i>Trichophyton rubrum</i>, <i>Trichophyton mentagrophytes</i> y <i>Epidermophyton floccosum</i></p> <p>Metodología:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se obtuvo el extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" • Se evaluó los parámetros fisicoquímicos del extracto (características organolépticas, identificación de compuestos químicos, pH y humedad). • Se elaboraron lotes piloto de cremagel a base del extracto atomizado de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara". • Se evaluaron los parámetros fisicoquímicos y biológicos del cremagel. (Organolépticos, pH, viscosidad, extensibilidad y irritabilidad en piel, según Vila, J 2001. • Se evaluó la Actividad Antimicótica por el método de dispersión en placas y se medirá el halo de inhibición. según (Alvarado V. 2010.) • Se determinará la CMI y CMF por el método de dilución en caldo según (Almeida, 2005). <p>Recolección de datos: Se realizará la medición de los halos de inhibición con ayuda de un vernier, colocada sobre la superficie de una placa y con luz refleja.</p> <p>Análisis de datos: Los resultados se procesaron comparativamente en cuadros y gráficos estadísticos y fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) que permitió determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias de las diferentes concentraciones fueron analizadas por la prueba de Tukey, para el estudio se utilizó un nivel de confianza de p<0,05, el software estadístico SPSS versión 20,0.</p>

Actividad antimicótica del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos. Ayacucho - 2013

Flor de María López Chaupín¹, Edgar Cárdenas Landeo¹ y Víctor Cárdenas López¹.

¹Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

La tiña de pie presenta distribución universal y es una de las formas de dermatofitosis más frecuente a nivel mundial. En las últimas décadas se ha observado no solo un notable aumento de las infecciones causadas por hongos, sino un incremento de la resistencia farmacológica. Por esta razón el objetivo general del estudio, fue determinar la actividad antimicótica *in vitro* del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos, el cual fue desarrollado en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) y el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de enero - agosto del 2014. Las muestras de *Caesalpinia spinosa* "tara" fueron recolectadas al azar, durante el mes de enero del distrito de Luricocha, provincia de Huanta del departamento de Ayacucho. En el extracto atomizado de tara se realizó el tamizaje fitoquímico, los metabolitos presentes en extracto atomizado fueron: taninos, fenoles, quinonas, saponinas y otros metabolitos secundarios. Así mismo se evaluó las características fisicoquímicas del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* "tara", como la solubilidad, el pH y las características de extensibilidad. El cremagel al 3,0 % presenta un color beige claro, el cremagel 5,0 % color beige y el cremagel 7,0 % color beige oscuro, tienen un pH de 5,90; 5,30 y 5,04 respectivamente.

El cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* "tara" al 7% presentó mayor actividad con un halo promedio de inhibición de 49,8667 mm frente a *Trichophyton rubrum*, mientras que frente al *Trichophyton mentagrophytes* no se apreció diferencias en cuanto a los halos de inhibición obtenidos ya que el cremagel al 3%, 5%, 7% y Terbinafina tienen la misma actividad antimicótica.

Palabras Clave: Actividad antimicótica, *Caesalpinia spinosa* "tara", dermatofitos

SUMMARY

Ringworm of the foot has universal distribution and is one of the most common forms of ringworm world wide. In recent decades there has been not only a significant increase in infections caused by fungus, but increased drug resistance. Therefore the overall objective of the study was to determine the antifungal activity *in vitro* creamgel produced from atomized pods *Caesalpinia spinosa* "tara" against dermatophytes, which was developed at the Center for Development, Analysis extract and Drug Quality control and Phytomedicines (CEDACMEF) and the laboratory of Parasitology, Faculty of Biological Sciences, National University of San Cristobal de Huamanga during the months of January to August 2014. Samples of *Caesalpinia spinosa* "tara" were collected random, during the month of January Luricocha district, province of Huanta Ayacucho department. In the atomized extract tara phytochemical screening was performed, the metabolites present in atomized extract were: tannins, phenols, quinones, saponins and other secondary metabolites. So mime the physicochemical characteristics of Cremagel made from atomized extract of *Caesalpinia spinosa* pods "tara", as solubility, pH and extensibility features were evaluated. The 3.0% Cremagel presents a light beige color, 5.0% Cremagel and Cremagel beige dark beige 7.0%, have a pH of 5.90; 5.30 and 5.04 respectively.

The Cremagel made from atomized extract of pods *Caesalpinia spinosa* "tara" 7% showed higher activity with an average inhibition halo 49.8667 mm against *Trichophyton rubrum*, while against *Trichophyton mentagrophytes* differences are not appreciated in terms of the inhibition halos cremagel obtained as the 3%, 5%, 7% and terbinafine have the same antifungal activity.

Key words: Antifungal Activity, *Caesalpinia spinosa* "tara", *Dermatophytes*.

INTRODUCCIÓN

Es probable que las infecciones cutáneas sean las infecciones micóticas más comunes de los seres humanos.¹ La dermatofitosis es causada por hongos de los géneros *Microsporium*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*.²

La tiña del pie o *tinea pedis* presenta distribución universal y es una de las formas de dermatofitosis más frecuente a nivel mundial.³

En las últimas décadas se ha observado no solo un notable aumento de las infecciones causadas por hongos.⁴

Este aumento en el número de casos por infecciones fúngicas tanto invasivas como superficiales ha incrementado el interés particular por el estudio de la actividad *in vitro* a los antifúngicos naturales ya que estos pueden apoyar nuevas alternativas para el buen manejo del paciente y el respectivo tratamiento.⁵

La industria farmacéutica internacional ha abierto una novedosa línea de productos, basada en extractos estandarizados de especies vegetales. Esta tendencia, responde a la búsqueda de medicamentos naturales por parte de los consumidores. Hoy en día, se puede palpar un compromiso creciente en cuanto a la investigación, el desarrollo, la innovación, la producción y comercialización de medicamentos basados en los extractos estandarizados de especies vegetales: fitoterapia.⁶

La *Caesalpinia spinosa* "tara", posee propiedades antibacterianas y antimicóticas, que puede ser usadas en el campo dermatológico como complemento al tratamiento de dermatofitosis, siendo disponibles en el Perú como alternativa terapéutica en atención de salud.⁷

La presente investigación pretende aportar una alternativa del tratamiento antimicótico; debido a que los hongos van adquiriendo resistencia contra los medicamentos antimicóticos sintéticos y estos tratamientos orales prolongados, con un elevado costo económico, ocasionan efectos secundarios, por lo cual se hace necesario el desarrollo de nuevos fármacos más eficaces, que pueden ser aisladas de fuentes naturales, principalmente de especies vegetales.

Objetivo general:

- Evaluar la actividad antimicótica del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos.

Objetivos específicos:

- Identificación fitoquímica del extracto atomizado de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* "tara".
- Determinación de la actividad antimicótica del cremagel elaborado a base del extracto

atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos.

- Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos.
- Evaluación de las características fisicoquímicas del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara".

MATERIALES Y MÉTODOS

DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN Y MUESTRA

Muestra

- 5 kg de vainas de *Caesalpinia spinosa*, "tara"

Tipo de muestreo

Muestreo por conveniencia.

Unidad experimental

- *Trichophyton rubrum*
- *Trichophyton mentagrophytes*
- *Epidermophyton floccosum*

DISEÑO METODOLÓGICO

Metodología para la recolección de datos

Recolección de la muestra

Las muestras de *Caesalpinia spinosa* "tara" fueron recolectadas al azar, durante el mes de enero del distrito de Luricocha, provincia de Huanta del departamento de Ayacucho.

Obtención del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa*

Una vez desecada las vainas de *Caesalpinia spinosa* se procedió a despepitarlas. Las vainas fueron reducidas a partículas pequeñas con un molino.⁸

Los 1905 g de muestra seca y pulverizada de *Caesalpinia spinosa* "tara" en estudio, se concentró en una marmita o tanque de 100 L.⁸

Tabla 1. Parámetros de obtención del extracto⁸

Temperatura	Tiempo	Relación agua/polvo	Número de lavados
65 - 70°C	30 - 40 minutos	5/1 a 4/1	4 - 5

Se filtró el extracto acuoso obtenido utilizando papel filtro y algodón, con la bomba de succión y embudo de buchner.⁸

Concentración de la muestra

Se concentró la muestra en un rotavapor industrial a una temperatura menor a 45 °C hasta llegar a un 10 % de sólidos totales obteniéndose 8,3 L de extracto concentrado de tara.^{9,10}

Atomización del extracto acuoso

La solución concentrada se secó utilizando el atomizador Spray Driver B290 del CEDACMEF.

Se consideró los siguientes parámetros:^{9,10}

- Temperatura de entrada: 150 a 180 °C
- Temperatura de Salida: 77 a 86 °C
- Aspirador 100%
- Porcentaje de Bomba: 15 a 30 %
- Flujo de muestra: 3-4 cm³/min

Se obtuvo 373,65 g de atomizado.

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara"

- Determinación de las características organolépticas¹¹

Tamizaje fitoquímico del extracto atomizado de la *Caesalpinia spinosa*

- Determinación de la solubilidad.^{11,12}
- Determinación del pH^{11,12}
- Determinación del contenido de humedad.^{11,12}
- Determinación de las cenizas totales.^{9,10}
- Determinación de sustancias solubles.^{9,10}

Formulación del cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara"

Se eligió los materiales y excipientes adecuados y compatibles de acuerdo a las características fisicoquímicas del extracto atomizado para la formulación.¹³

Tabla 2. Composición del cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara".

	Blanco	Extracto atomizado de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara"		
		3%	5%	7%
Crema base	20%	20%	20%	20%
Gel Base	10%	10%	10%	10%
Propilenglicol	1%	1%	1%	1%
Agua csp.		Csp 100%		

Tabla 3. Componentes de la crema base

Componentes	Concentración
Fase Oleosa	
Cera Lanet SX	15%
Cetiol	10%
BHT	0.10%
Fase Acuosa	
Parabenos	1.50%
Propilenglicol	0.50%
H ₂ O Csp.	100%

Tabla 4. Componentes del gel base

Componentes	Concentración
Carbopol 949	2%
Parabenos	1,5%
Propilenglicol	10%
H ₂ O	Csp. 100%

Elaboración del cremagel de *Caesalpinia spinosa*

- Se formuló el cremagel elaborado a base de *Caesalpinia spinosa* a las concentraciones de 3%, 5% y 7%.
- Se pesó el extracto atomizado de tara correspondiente a cada una de las concentraciones establecidas.
- En un mortero de porcelana se disolvió el extracto atomizado de tara utilizando como diluyente al agua destilada, a esta primera fase le llamamos solución 1.
- En otro recipiente se disolvió el gel base y la trietanolamina a esta fase le llamamos solución 2.
- Llevamos la solución 2 sobre la 1 hasta que se diluya con homogeneidad, le llamamos solución 3.
- A la solución tres formada se le agregó poco a poco la crema base hasta formarse así el cremagel de tara.
- Se repitió todos los pasos realizados para elaborar el cremagel a las concentraciones 5% y 7%.
- Se envasó en envases previamente sanitizados en un ambiente aséptico y se verificó el peso obtenido de cada concentración del cremagel.

Control de los parámetros fisicoquímico del cremagel de *Caesalpinia spinosa*. "tara"^{11,12}

- Determinación del tipo o signo de emulsión
- Determinación del índice de extensibilidad

Evaluación de la actividad antimicótica

Activación de los hongos dermatofitos

Se preparó Agar Soya Trypticase y se dispersaron en tres tubos con tapas rosca éstas se autoclavaron, sobre estos tres tubos con agar se sembró las cepas de *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum* ATCC 25923, proporcionados por el Instituto Nacional de Salud y se incubaron a 30 °C por 7 días. Este cultivo madre se utilizó para realizar las pruebas de actividad antimicótica.^{13,14}

Preparación del inóculo

Se seleccionaron las cepas de *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum*; se sembró en placas Petri que contenían agar Sabouraud dextrosado y se incubó a 30 °C por 7 días para luego transferirlas a un tubo con 5 ml de solución salina, para obtener una turbidez ópticamente similar al estándar 0,5 de la escala Mc Farland.^{13,14}

Determinación de la actividad antifúngica

Se empleó la técnica de "disco en agar".

- Se preparó agar Müller Hinton, el cual fue esterilizado y enfriado para luego añadir 18 ml del medio en cada placa Petri estéril.

- Una vez solidificado el medio, se sembró las diferentes cepas de hongos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum* ATCC 25923 se sembró por el método de estrías usando un hisopo estéril, haciendo un extendido por toda la placa, después se dejó secar las placas por 30 minutos al ambiente.
- Luego se colocó los discos de papel Wetex secante de 6 mm de diámetro y 0,6 mm de grosor embebidos con las diferentes concentraciones del cremagel de 3%, 5%, 7%, blanco y estándar (Terbinafina), las placas se incubaron a 30°C por 7 a 14 días.^{12,13,14}

Lectura e interpretación de los resultados

Se midieron los diámetros de los halos utilizando un vernier.^{15,16}

Para el cálculo de porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inhibición} = \frac{\text{Diámetro del halo de inhibición de la muestra}}{\text{Diámetro del halo de control}} \cdot 100$$

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se procedió a la dilución del extracto en una serie de tubos que contenían caldo Saboraud dextrosado para el crecimiento del dermatofito que se va a ensayar. Se inoculó las cepas de *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes* y se incubó a 35°C por 3 días y se determinó la concentración mínima inhibitoria del antimicótico.¹⁷

Procedimiento:

- Para hallar la concentración mínima inhibitoria (CMI) se preparó 15 tubos previamente esterilizados y rotulados del número 1 al 15.
- Se agregó a partir del tubo N° 1 hasta el tubo N° 15, 1 ml de caldo nutritivo.
- Posteriormente se agregó 2 ml del extracto preparado al 7 %, al tubo N° 1, a partir del cual se traspasó 1 ml al tubo N° 2 y así sucesivamente hasta el tubo N° 14, del tubo N° 14 se extrajo 1 ml y se descartó. El tubo N° 15 no recibió extracto, siendo éste el control.

Luego se adicionó 1 ml del inóculo de *Trichophyton rubrum*, a todos los tubos e inmediatamente se llevó a incubar los tubos a 35 °C entre 3 a 7 días. El mismo procedimiento se realizó para el *Trichophyton mentagrophytes*.

Tabla 5. Concentraciones decrecientes de las diluciones del atomizado de la *Caesalpinia spinosa* "tara".

Tubos	<i>Trichophyton Rubrum</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
1	0,0700	0,0700
2	0,0359	0,0359
3	0,0175	0,0175
4	0,0875	0,0875
5	0,0437	0,0437
6	0,0218 (CMF)	0,0218
7	0,0109 (CMI)	0,0109 (CMF)
8	0,0054	0,0054 (CMI)
9	0,0027	0,0027
10	0,0013	0,0013
11	0,0006	0,0006
12	0,0003	0,0003
13	0,0001	0,0001
14	0,00008	0,00008

Se observa el crecimiento del hongo por la presencia de turbidez en el medio. El punto final de la CMI se definió como la dilución del tubo en el que no presenta turbidez, para esto se comparó el tubo utilizado como blanco.

Determinación de la concentración mínima fungicida (CMF)

Para determinar la CMF se utilizó la concentración mínima inhibitoria, se seleccionaron los tres tubos en los que no se observaron turbidez al determinar la CMI, a partir de los cuales fueron sembrados en placas con agar Saboraud dextrosado y posteriormente se incubaron por 4 a 7 días.

Diseño experimental

Tipo de investigación

- Experimental

Diseño de investigación

Diseño con pos prueba únicamente y grupo control

RG1 X O1

RG2 X O2

R: asignación al azar o aleatoria.

G: Grupos de sujetos (G1, grupo 1; G2 grupo 2; etc.)

X: Tratamiento, estímulo o condición experimental.

O: Medición experimental

- : Ausencia de estímulo. Indica grupo control o testigo

Análisis de datos

Los resultados se procesaron comparativamente en cuadros y gráficos estadísticos y fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) que

permitió determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias de las diferentes concentraciones fueron analizadas por la prueba de Tukey, para el estudio se utilizó un nivel de confianza de $p < 0,05$, el software estadístico SPSS versión 20,0.

RESULTADOS

Tabla 6. Características fisicoquímicos del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara". Ayacucho - 2014.

PARAMETROS	ENSAYOS	RESULTADOS
Organolépticos	Color	Beige claro
	Olor	Característico
	Sabor	Astringente
	Aspecto	Polvo fino
	Agua	Muy soluble
Solubilidad	Metanol	Soluble
pH	pH - metro	3,5
Humedad	Gravimétrico	9,70%
Centizas	Gravimétrico	3,19 %
Rendimiento	Sólidos Totales	11,89%

Tabla 7. Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa*. "tara". Ayacucho - 2014.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
Alcaloides	Dragendorff	+	No hay reacción
	Mayer	+	Opalescencia ligera
Azúcares reductores	Fehling	+	Precipitado rojo
Catequinas	Catequinas	++	Mancha verde carmelita a luz UV
Saponinas	Espuma	++	Si hay presencia de espuma
Flavonoides	Shinoda	++	Fase amilica de color amarillo intenso
	NaOH 20% H ₂ SO ₄ (c)	++ ++	Color naranja Color amarillo
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración negro azulado
Quinonas	Borntrager	+	Coloración roja

Leyenda:

(-) : Ausente (+): Escasa (++) : Buena (+++) : excelente

Tabla 8. Parámetros de las características organolépticas y pH del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara". Ayacucho 2014

PARÁMETROS	ENSAYOS	FÓRMULAS	RESULTADOS
Características organolépticas	Color	Crema 3,0%	Beige claro
		Crema 5,0%	Beige
		Crema 7,0%	Beige oscuro
		Crema base	Blanco nieve
	Olor	Crema	Suigeneris
Sabor	Crema	Amargo	
Aspecto	Crema	Homogéneo	
	Crema base	6,93	
	Crema 3,0%	5,90	
	Crema 5,0%	5,30	
pH	Crema 7,0%	5,04	

Tabla 9. Tipo de emulsión del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara". Ayacucho - 2014.

MÉTODOS	SOLVENTE	RESULTADOS
Dilución	Agua purificada	Homogéneo, Soluble y (Emulsión O/W)

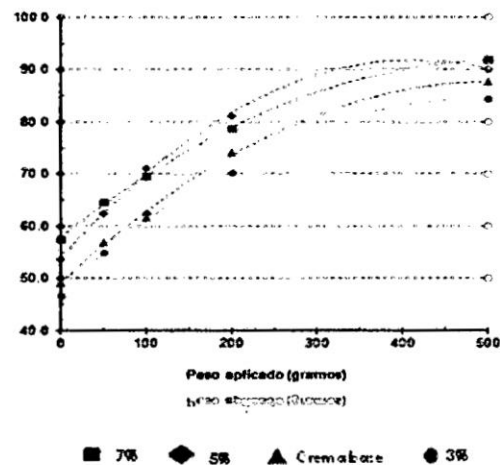


Figura 1. Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado al cremagel elaborado a base del extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara" a concentraciones 3 %, 5%, 7% y blanco. Ayacucho - 2014.

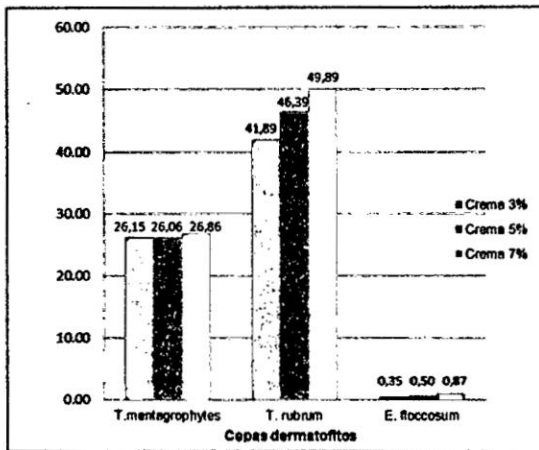


Figura 2. Halos de inhibición (mm) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" a concentraciones 3%, 5% y 7% frente a las diferentes cepas. Ayacucho – 2014.

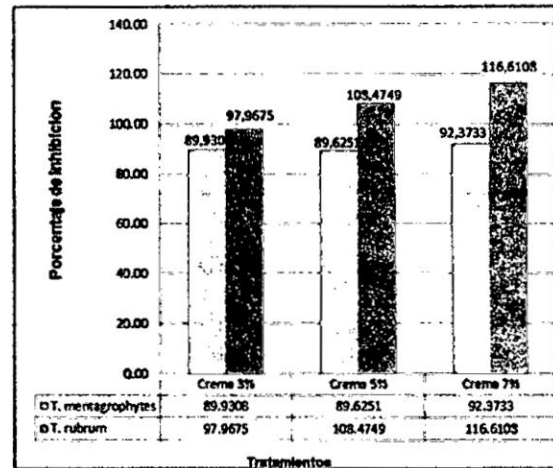


Figura 4. Porcentaje de los halos de inhibición (mm) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" a concentraciones 3%, 5% y 7% sobre cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho-2014.

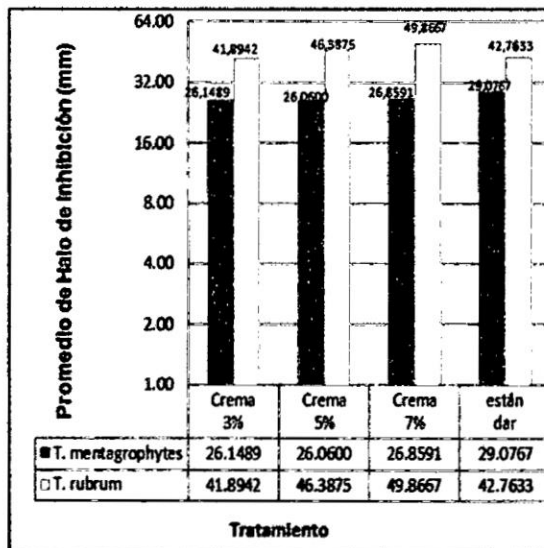


Figura 3. Valores promedio de los halos de inhibición (mm) del cremagel elaborado a base del extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara" a concentraciones 3%, 5%, 7% y la Terbinafina (estándar) sobre cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho – 2014.

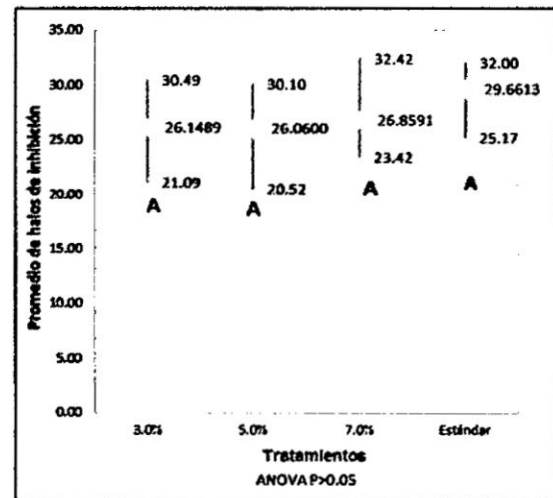


Figura 5. Prueba de comparaciones del promedio de halos de inhibición a las concentraciones 3%, 5% y 7% del cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara" y estándar frente a *Trichophyton mentagrophytes*. Ayacucho – 2014

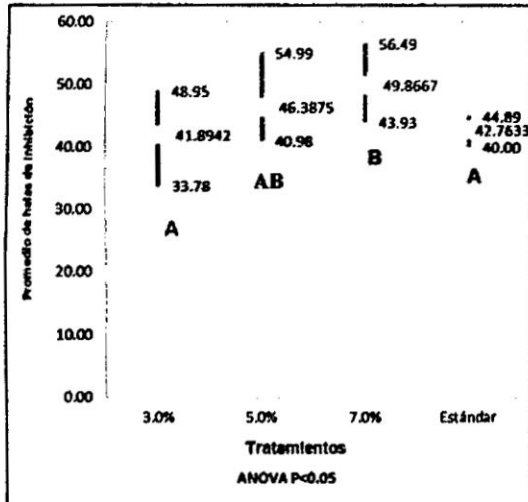


Figura 6. Prueba de comparaciones del promedio de halos de inhibición a las concentraciones 3%, 5% y 7% del cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara" y estándar frente a *Trichophyton rubrum*. Ayacucho- 2014

DISCUSION

Para la obtención del extracto atomizado de tara se sigue el protocolo descrito por Razo¹⁰ y Fernández¹¹ mostrando que el extracto atomizado obtenido de *Caesalpinia spinosa* "tara" es un producto de calidad que cumple con los parámetros mencionados por Goycochea tal como se observa en la Tabla 1 teniendo gran cantidad de sólidos totales que da como principal componente entre 65 % a 70% de taninos presente en las vainas de tara.

Al analizar el tamizaje fitoquímico, se observan los diferentes metabolitos secundarios presente en el extracto atomizado de *Caesalpinia spinosa* "tara" (Tabla 8) este estudio comprendió un conjunto de ensayos y técnicas, que muestran resultados cualitativos o de identificación dándonos una idea general de la composición química de la planta, desatando la presencia de taninos, lactonas, saponinas, alcaloides, flavonoides y otros metabolitos, corroborado por Narvaez¹⁸ demostrándose que el proceso de atomizado no existe pérdida de metabolitos secundarios responsable del efecto farmacológico, específicamente de los taninos.

Mariela¹⁹ menciona que los taninos hidrolizables son característicos de dicotiledóneas. Al tratar los taninos hidrolizables con cloruro férrico ($FeCl_3$) aparece una coloración azul, se hidrolizan con facilidad por la acción de los ácidos, bases o enzimas, en un azúcar, un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico dependiendo del tipo de ácido que produce por la reacción se subdividen en galotaninos (ácido gálico) y elagitaninos (ácido elágico o dilactona estable del ácido hexahidroxidifénico), demostrando así que el extracto atomizado de tara esta contenido de

gran cantidad de tanino de tipo hidrolizable ya que este presenta una coloración azul oscuro al reactivo $FeCl_3$.

En investigaciones realizadas se encontró que los taninos y flavonoides son metabolitos, encontrados en la *Caesalpinia spinosa* que se encuentran en diferentes partes de la planta. Estos son solubles en agua, etanol, acetona y otros disolventes orgánicos, tienen actividad anti diarrea, antihemorrágico local, antihepatotóxica y antibacteriana, Huarino²³ demuestra que la *caesalpinia spinosa* posee altas concentraciones de taninos.

Trillo²⁰ menciona que un estudio de formulación debe ir precedido del conocimiento de determinadas propiedades físicas, químicas y biofarmacéuticas del principio activo y las influencias sobre estas de los excipientes y proceso tecnológico determina las cualidades fundamentales del medicamento que son eficacia, seguridad y estabilidad.

En el presente estudio esta situación se agrava debido a la higroscopidad inherente del extracto atomizado y a la cantidad de extracto añadido. Las medidas utilizadas para evitar estas inconvenientes es adecuar un área de trabajo, controlando el porcentaje de humedad en el medio y la presión. Una vez obtenida la fórmula nos vamos a la realización de varios pilotos, teniendo en cuenta principalmente las características fisicoquímicas del tanino como solubilidad, carácter lipófilo u hidrófobo se concluye con la formulación, realizando los controles respectivos tal como se muestra en la Tabla 7.

En la Tabla 9 se presenta los resultados de las características organolépticas del cremagel, en ella se aprecia que el color del cremagel depende de la concentración de extracto atomizado de la *Caesalpinia spinosa* "tara". La crema base es de un color blanco nieve, el gel base es translucido, observándose que el cremagel al 3.0% presenta un color beige claro, el cremagel al 5.0% un color beige y el cremagel al 7.0 % un color beige oscuro. Esta forma farmacéutica semisólida presenta un aspecto homogéneo la que nos demuestran su buena estabilidad.

En la misma tabla se muestran los resultados del pH del cremagel; el cremagel base tiene un pH de ligeramente ácido, el cremagel al 3.0% un pH de 5,90 ácida, el cremagel al 5.0% un pH de 5,30 ácida y el cremagel al 7.0 % un pH de 5,04 siendo más ácida. El ungüento hidrófilo denominado también crema de emulsión O/W aniónicas son inestables a un pH inferior a 5,0 como describe Trillo²⁰ por tanto el pH de las cremas están dentro de las especificaciones que oscilan entre 5,0 a 7,5 tal como menciona en sus procedimientos el Laboratorio Farmacéutico

Markos²¹. Es necesario tener en cuenta el pH de la piel que oscila entre 4,9 para los hombres y 5,0 para las mujeres como menciona Orlandi, cuando el pH de la superficie es más alcalino, se produce prurito y dermatitis de carácter inespecífico, las que se evitan con la formulación de cremas con pH cercano a la piel, por tanto el cremagel al 7,0 % se asemejan al pH de la piel.

En la Tabla 10, se reporta el tipo de emulsión del cremagel, es homogénea en agua y heterogénea en alcohol etílico, comprobando que es una emulsión O/W. El cremagel en estudio según Vila²² se les denomina emulsiones O/W, formas farmacéuticas constituidas por dos fases, una lipófila y otra acuosa, debido a que la fase externa es de naturaleza acuosa por la presencia en su composición de emulsificantes tipo O/W, en este caso es la cera Lanette N. Por tanto hay una necesidad de ser evaluada si la forma farmacéutica semisólida en estudio corresponde a lo descrito anteriormente, en la Tabla 9 se presenta un método para determinar el tipo de emulsión; según el método por dilución el cremagel en estudio es soluble en agua y presenta un aspecto homogéneo, es decir si presenta una dispersión homogénea en agua la fase externa es acuosa, decimos entonces que es una emulsión O/W. Por tanto decimos que el cremagel es una emulsión en O/W.

En la Figura 4, se presentan los resultados de la prueba de extensibilidad del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de tara. En un estudio de formulación de formas farmacéuticas semisólidas es necesario evaluar el comportamiento reológico debido a que las propiedades reológicas tienen una gran influencia en la estabilidad y en la textura de los mismos como menciona en este estudio se considera el índice de extensibilidad que proporciona una medida del umbral de deformación del sistema. Podemos observar que la extensibilidad es aproximadamente proporcional al peso aplicado (a mayor peso, mayor extensibilidad), llegando a un punto donde al aplicar mayor peso la extensibilidad es constante. En la Figura 4 se muestra que el cremagel al 7,0% tiene mayor extensibilidad aplicando 500 g de peso, igual a $72,43 \pm 5,95 \text{ cm}^2$, seguido del cremagel 5,0 % con $71,64 \pm 6,50 \text{ cm}^2$, cremagel 3,0 % con $63,71 \pm 6,47 \text{ cm}^2$ y el cremagel base con $65,87 \pm 6,78 \text{ cm}^2$, estos comportamientos puede ser debido a que las cuatro formulaciones tienen diferentes cantidades de agua.

En la Figura 5 se muestra los promedios de los halos de inhibición del cremagel a las diferentes concentraciones 3%, 5% y 7% frente a las tres cepas: *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum*;

observando que el cremagel de *Caesalpinia spinosa* "tara" tiene actividad frente a dos tipos de cepas *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*, pero no presenta actividad frente al género *Epidermophyton floccosum*. Las hifas de *Epidermophyton floccosum* se caracterizan por estructuras alargadas, las paredes de *Epidermophyton floccosum* son bastante similares a las de *Neurospora* que consta de dos partes distintas: una capa exterior delgada, denso en electrones, la lámina densa y una capa fibrilar interior más amplia, presentando macroconidios y ningún microconidio.⁸

En la Figura 6 se observa las características del cremagel de extracto atomizado de tara a las concentraciones 3%, 5% y 7% que mostrando promedios de halos de inhibición crecientes de 41,8942 para el cremagel al 3%, 46,3885 para el cremagel al 5 % y para el cremagel al 7% 49,8667, mostrando mejor sensibilidad frente a *Trichophyton rubrum* a la concentración de 7% con un promedio de halo de 49,8667 mm, siendo este valor mayor a la Terbinafina que presenta un halo de inhibición de 42,7633 habiendo diferencia entre los tratamientos ensayados ($p < 0,05$) a un nivel de confianza del 95 %, Kondo²⁴ muestra el efecto antibacteriano del extracto alcohólico en diferentes concentraciones de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae* usando inóculos estandarizados con el Nefelometro de McFarland N° 0,5 encontrándose que el promedio de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos con las diferentes concentraciones ensayadas varía de 34,11 a 43,55 mm. A medida que se aumenta la concentración del extracto alcohólico de *C. spinosa* se obtiene mayor diámetro de halo de inhibición²⁴.

Huarino¹⁵, encontró halos de inhibición mayores a 9 mm con diámetros promedios que varían entre 12,32 a 17,32 mm según aumente la concentración del extracto de *Caesalpinia spinosa*, se decidió comparar con un control positivo (Clorhexidina al 0,12%) que generalmente se usa como antiséptico oral, y un control negativo (alcohol 70°) encontrándose que los halos de inhibición obtenidos por el extracto de *Caesalpinia spinosa* fueron mayores que los obtenidos por los grupos controles (Clorhexidina 0,12% y alcohol 70°).

En cuanto al fármaco utilizado se pudo demostrar que la Terbinafina utilizada como control, tiene una buena sensibilidad a los dermatofitos esto lo demuestra Colella²⁵ donde menciona que la mayor sensibilidad a los dermatofitos fue por la Terbinafina, seguida por la griseofulvina e itroconazol. Sin embargo, se

requieren más estudios en los cuales se utilice los mismos parámetros que se usaron en este trabajo ya que no se encontró mayor referencia con respecto a lo mencionado. Además, se necesitan estudios *in vitro* e *in vivo*, indispensables para la determinación de la actividad dándose una respuesta clínica frente a un tratamiento

En la Figura 8 se observa que los halos de inhibición frente al dermatofito *Trichophyton mentagrophytes* a las concentraciones 3,0 %, 5 %, 7 % y estándar terbinafina con halos de inhibición promedios 26,1489; 26,0600; 26,8591 y 29,6613 no presentan diferencia estadísticamente ya que a cualquier concentración utilizada del cremagel se obtendría los mismo resultados.

En la Figura 9 se observa que los halos de inhibición frente al dermatofito *Trichophyton rubrum* del cremagel a las concentraciones de 3%, 5% y el estándar con halos de inhibición promedios 41,8942; 46,3875 y 42,7633 mm respectivamente son estadísticamente iguales, pero que hay diferencia estadística frente al cremagel de extracto atomizado de tara al 7% que presenta un promedio de halo de inhibición de 49,8667 mm, también se observa que el cremagel al 5% y al 7% son estadísticamente iguales

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sahm D. Weissfeld A. Diagnóstico Microbiológico. 12^oed. Argentina Editorial Médica Panamericana S.A. 2009
2. Dermatomosis. Tiña, Tinia y Dermatomosis Instituto For Internacional Cooperación In Animal Biologics. Iowa State University Mayo 2005.
3. Benedito T, Vallecidos M. Tinea pedis. fml Revista de Medicina de la Familia y Atención Primaria (Revista en internet) 2013 (acceso a internet 02 de diciembre de 2013) 17(8) disponible en: http://www.revistafml.es/upload/ficheros/noticias/201302/1708_im_tia_pedis.pdf
4. Arango M. Sánchez B. Productos Naturales con Actividad Antimicótica. Rev. Española Quimioterápica Prou Science S.A. (revista de internet) Diciembre 2004 (acceso 17 de noviembre del 2013) 7(2). Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/17/4/325.pdf>
5. Cea R. Célula Inventa Química y Farmacia. Célula inventa química y farmacia dirección de innovación y calidad. (revista de internet) setiembre 2013 (acceso 20 de agosto del 2014) 1(8) <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/4591/Publicaci%C3%B3n%20de%20Fito%C3%A1rmacos.pdf>
6. Haddad M, Fernández I, Actividad Antifúngica de Cuatro Plantas Usadas en la Medicina Tradicional Peruana. Aislamiento de 3'-formil - 2',4',6' - Trihidroxidihidrochalcona, Principio Activo de *Psidium acutangulum* (Revista en internet) 20112013 (acceso a internet 02 de diciembre del 2013) 77(3) disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v77n3/a05v77n3.pdf>
7. Goycochea R. Evaluación de taninos y goma del fruto de la tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze provenientes de las lomas de Atiquipa, Arequipa - Perú. Facultad de Ciencias Forstales. Universidad La Molina. 2010.
8. Alnicolsa. Productos agroindustriales de exportación. Todo sobre la tara (acceso a internet 03 de enero del 2014) disponible en : <http://taninos.tripod.com/>
10. Razo E. Diseño de una planta piloto para la industrialización de stevia en la Comunidad Cueva de los Monos, Canton Sacha, Provincia de Orellana [Tesis] Quito: Facultad de ingeniería Química y Agroindustria de la Escuela Politécnica Nacional. 2011.
11. Fernández A. Figueroa M. Laboratorio de Operaciones Unitarias II. Secado por Atomización de la Tara. Universidad Nacional de Ingeniería. 2014 <http://es.scribd.com/doc/231769117/SECADO>
12. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y Extractos .Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos-Universidad de la Habana Habana-Cuba.2002
13. Miranda M., Cuellar A. Manual de prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana Habana-Cuba.200
14. Cáceres, A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. editorial Universitaria.1995
15. Alvarado V. Plantas medicinales: efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major L*, *Eriothroxylum novo granatense*, *Plowman var Truxillense* y *Camelia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. Revista científica odontología Sanmarquina: 2010; 13(2): 21-25.
16. USP 35. Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario nacional. Estados Unidos de América: 2012.
17. James H. Electro microscopic observations of *Epidermophyton floccosum*. The journal of investigative dermatology (Acceso a internet 05 de abril del 2014).

18. Narváez A, Las poblaciones naturales de la tara (*Caesalpinia spinosa*) en el Ecuador: Una aproximación al conocimiento de la diversidad genética y el contenido de taninos por medio de estudios moleculares y bioquímicos (revista de internet) 2010 enero (acceso 20 de noviembre del 2013) 36(15).disponible en: http://asocam.net/portal/sites/default/files/publicaciones/archivos/BIBLIOTECA_0064.pdf.
19. Escobar, M. Nuevos antimicóticos y su uso en dermatología. Servicio en dermatología. Universidad CES .Medellín. Colombia. 2004. Laboratorios Farmacéuticos Markos. Procedimiento de Operación Estándar; Fabricación de Productos semisólidos No Estériles. Lima. 2004.
20. Trillo F. Tratado de Farmacia Galénica. Madrid: Ed. Luzán S.A; 1993.
21. Laboratorios Farmacéuticos Markos. Procedimiento de Operación Estándar; Fabricación de Productos semisólidos No Estériles. Lima. 2004
22. Vila J. Tecnología Farmacéutica. Volumen II (Formas Farmacéuticas). 1ra Reimpresión. Edit. Síntesis S.A. Madrid 2001
23. Huarino M. Efecto antibacteriano de la *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival mixta. (Tesis de la Facultad de Otdontología UNMSM) Lima Perú (s.n.) 2011.
24. Kondo K, Takaishi Y, Shibata H, Higuti T. Ilsmrs (Intensifier of beta- Lactam Susceptibility in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) from Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. J Phytotherapy And Phytopharmacolog.2006.
25. Colella M. Castro M et. Al Suceptibilidad. antifungica en dermatofitos Rev. Kasmera, Sección de Micología Médica, Instituto de Medicina Tropical, Facultad de Medicina. UCV 32 (2) 85-92 julio- Diciembre 2006