

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**



**Actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico
de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K.
"amor seco". Ayacucho – 2012**

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

PRESENTADO POR:

Bach. VELAPATIÑO MIRANDA, Karina Del Carmen

**AYACUCHO – PERÚ
2012**

DEDICATORIA

A mi abuela Roberta, a mi hermano Bernardht, mi hija Grecia Eskarine y a mis padres Juana Carmen y Ciro.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por haber contribuido en mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, y en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica.

A mis profesores de la Escuela y en especial a mi asesor Mg. Marco Rolando ARONÉS JARA, profesor Asociado a Dedicación Exclusiva, adscrito al Departamento de Ciencias Biológicas de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica.

A mis Co-Asesores Q. F. Hugo Roberto LUNA MOLERO, Q.F. Juan PANIAGUA SEGOVIA, y al Dr. José Alejandro YARLEQUE MUJICA por todo el apoyo brindado para la culminación de esta tesis.

ÍNDICE

	Pág
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESÚMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	03
2.1 Antecedentes	03
2.2 Actividad antimicótica	05
2.3 Fármacos antimicóticos	08
2.3 <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K."amor seco"	12
2.5 Aspectos farmacológicos y químicos de <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K.	14
2.6 Propiedades farmacológicas de los metabolitos secundarios	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1 Ubicación	19
3.2 Población	19
3.3 Tamizaje fitoquímico	23
3.4 Actividad antimicótica	24
3.5 Evaluación del efecto antimicótico	26
3.6 Análisis estadístico	27
IV. RESULTADOS	28
V. DISCUSIÓN	34
VI. CONCLUSIONES	39
VII. RECOMENDACIONES	40
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	44

**Actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de
Xanthium catharticum H.B.K. "amor seco". Ayacucho - 2012.**

AUTOR : Bach. Karina Del Carmen VELAPATIÑO MIRANDA

ASESOR : Mg. Marco Rolando ARONES JARA

RESÚMEN

El trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de junio a octubre del 2012, con el objetivo de determinar la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco", en cepas del hongo *Cándida albicans*. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco", fueron triterpenos, azúcares reductores, quinonas, flavonoides, alcaloides, taninos y saponinas. Se evaluaron los parámetros fisicoquímicos del extracto presentando un color verde oscuro, olor; *sui géneris*; sabor amargo y de aspecto homogéneo, y un pH 7,23. El método para evaluar la actividad antimicótica fue la prueba de difusión en placa (Kirby Bauer). El extracto hidroalcohólico al 0,5% presenta un halo de inhibición de $10,21 \pm 0,041$ mm; el extracto al 1% de $12,38 \pm 0,015$ mm y al 2% un valor de $16,28 \pm 0,31$ mm comparado con la Terbinafina que fue $16,27 \pm 0,041$ mm. Se demostró que posee actividad antimicótica el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco". El porcentaje de inhibición de la actividad antimicótica frente a los discos de sensibilidad Terbinafina de los extractos al 0,5%; 1,0%; 2,0% fue de $62,73 \pm 0,43\%$; $76,07 \pm 0,15\%$ y $100,06 \pm 0,33\%$ respectivamente.

Palabras claves: Actividad antimicótica, extracto hidroalcohólico, *Xanthium catharticum* H.B.K

I. INTRODUCCIÓN

Discernir en el mundo de las plantas equivale a entender el mundo de la vida misma. El hombre convive con ellas y las aprecia teniendo en cuenta toda su belleza, su utilidad como medicina y alimento, que por lo habitual no se conoce a fondo los principios de la vida vegetal y se ignora el pequeño mundo misterioso representado por cada una de las plantas, tampoco se conoce hasta qué punto su propia vida depende de los vegetales.

En los países del tercer mundo la fitoterapia es una alternativa accesible, ventajosa y natural en la terapia de diversas patologías; se dice que es accesible por estar al alcance de la población con recursos económicos escasos o con una distribución de la riqueza terriblemente desequilibrada, es ventajosa y natural por las virtudes de muchas plantas medicinales nativas que aún no están investigadas química y farmacológicamente como el *Xanthium catharticum* H.B.K. conocido vulgarmente como "amor seco" con valiosas propiedades.

El presente estudio fitoquímico y farmacológico del extracto hidroalcohólico de las propiedades medicinales del "amor seco" va como un aporte para que a través del conocimiento de sus propiedades, se realicen otros estudios que profundicen más las investigaciones para conocer las bondades de esta planta y

difundan su uso masivo por estar al alcance de la población de bajos recursos económicos.

En ese sentido en el presente trabajo de investigación del “amor seco” se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General

- Evaluar la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K “amor seco”

Objetivos Específicos:

- Determinar los parámetros físico químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. “amor seco”.
- Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. “amor seco”.
- Determinar la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. “amor seco” frente a cepas del hongo *Cándida albicans*.
- Determinar a qué concentración el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. “amor seco” presenta mayor actividad antimicótica.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Las medicinas naturales poseen virtudes conocidas desde tiempos antiguos. La acción terapéutica de muchas plantas tienen resultados indiscutibles, que incluso los defensores más acérrimos de los medicamentos sintéticos se ven obligados a reconocer sus virtudes medicinales (Arroyo, 2002).

Son muchas las plantas del que se provee el hombre como fuente de principios activos de vital importancia para la medicina moderna (Cáceres, 1996).

En la actualidad nuestra primera casa de estudios, está dando mayor importancia a la investigación fitoquímica y farmacológica de las plantas medicinales, mediante la elaboración de trabajos de tesis en la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. En estos trabajos se vienen determinando diferentes actividades como: cicatrizantes, antiinflamatorias, analgésicas, diuréticas, entre otras. Revalorando así las propiedades terapéuticas de la flora local.

Vargas (2003), en su trabajo de tesis realizado con el *Plumbago coerulea* "yana warmi" reportó que estudios de sensibilidad antimicrobiana de *Plumbago*

coeurulea no se conocen, solo se realizaron investigaciones con respecto al aislamiento e identificación del componente activo.

Limaylla (1985), en su estudio del *Plumbago coeurulea* "yana warmi" reportó la identificación de diferentes compuestos como triterpeno y/o esteroides, mediante el método de Lieberman, Burchard (flavonoides), utilizando la reacción de Shinoda dando la coloración – roja. Demostró también que las hojas, la corteza y las raíces de las especies del género *Plumbago* poseen las siguientes propiedades; es tintórea, es antiulcerante, elimina callos y verrugas y es tóxico en bebidas. Determinó que en el tallo, hojas y raíz existen metabolitos que evidencian mayor actividad del *Plumbago coeurulea* sobre hongos dermatofitos y *Candida albicans* presentando mayor efecto antimicótico sobre el hongo *Microsporum gypseum*, con un promedio de inhibición de crecimiento de 18,68 nn. Halló significancia estadística ($p < 0,01$), en la interacción, concentración del extracto y órganos de la planta.

Lizcano y Vergara (2008), en su trabajo de tesis realizado "Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a los microorganismos patógenos, son plantas conocida por sus propiedades terapéutica y cuyas partes aéreas ya han sido estudiadas comprobándose la existencia de sustancias y en ella con actividad fúngica.

Rocabado (2004), en un estudio realizado en la Universidad Mayor de San Andrés de Bolivia, demostró mediante modelos experimentales en vivo, que *Xanthium spinosum*, presenta una actividad antiinflamatoria empleando extractos acuosos y extractos orgánicos.

Acosta De La Luz y Col. (2010), señalan además por otros investigadores que las raíces del *Xanthium strumarium* L. se emplearon en la medicina indígena de la India en la terapia del cáncer y que se encontraba entre las plantas ensayadas como anticancerosas por el Instituto Nacional del Cáncer de Maryland, EE. UU. Se expone que contiene flavonoides, polifenoles, entre otros y que estos compuestos tienen potencial anticancerígeno. Algunos autores manifiestan que han aislado de las partes aéreas del *Xanthium strumarium* L. dos lactonas sesquiterpénicas: xanthatina y xanthinosina como potencial agente anticancerígenos, que muestran una inhibición significativa en la proliferación de tumores, en cultivo *in vitro* de células humanas, así como también han encontrado actividad antimicótica en extractos de plantas completas con el uso de la microtubulina en el tamizaje realizado, por esta razón sugieren que esta planta puede poseer compuestos antimicóticos.

2.2. Actividad antimicótica

2.2.1. Antimicótico

Se define por antifúngico o antimicótico a toda sustancia que tiene la capacidad de evitar el crecimiento de algunos tipos de hongos o incluso de provocar su muerte. Dados que los hongos además de tener usos beneficiosos para el ser humano (levadura del pan, hongos de fermentación de los quesos, los vinos, la cerveza, entre otros) forma parte del colectivo de seres vivos que pueden originar enfermedades en el ser humano, en conocimiento y uso de los antifúngicos es de vital importancia a la hora de tratar de muchas enfermedades.

Aun cuando los intentos científicos de encontrar sustancias que fueran efectivas contra los hongos son más antiguas, es a partir de la década de 1940 cuando se aplican en el estudio de los benzoimidazoles, trabajo que da su fruto a partir de la década de 1960. Otras líneas de investigación a partir de la sustancias

elaboradas por otros seres vivos, llevan al descubrimiento en 1955 de la anfotericina B, y a su uso en humanos a partir de finales de la década de 1950, Esta sustancia, al demostrar su utilidad, se convierte en el patrón de referencia de todos los nuevos antifúngicos descubiertos desde entonces, sobre todo porque podía utilizarse por vía parenteral. A partir de este momento son numerosos los descubrimientos de nuevas sustancias que tienen propiedades antifúngicas. La mayoría solo ocuparan un lugar en el tratamiento tópico (clotrimazol, miconazol o econazol) pero algunos de ellos alcanzaran mayor trascendencia por la posibilidad de usarlos por vía parenteral lo cual es muy importante en el tratamiento de enfermedades mortales. En los primeros años del siglo XXI han aparecido o se encuentran en avanzado estudio al menos ocho fármacos nuevos, y se están investigando nuevos grupos que pueden traer consigo las síntesis de mejores antifúngicos (Bennet, 1991).

2.2.2. Micosis

Enfermedad causada por hongos microscópicos, habitualmente en la piel suelen ser benignas, aunque el tratamiento puede ser largo. Los tipos de micosis más frecuentes son la Candidiasis y el pie de atleta.

La micosis pueden clasificarse en función de los órganos afectados, de esta manera cuando la infección afecta a la piel y a las uñas hablamos de micosis superficiales y al contrario cuando el hongo se detecta en la sangre y puede afectar a cualquier órgano hablamos de micosis profundas, estos casos son más preocupantes en personas inmunodeprimidas cuyas defensas naturales son más débiles.

El tratamiento de la micosis es fácil, aunque a menudo larga, y suelen tratarse mediante antifúngicos, cuya forma difiere en función de la localización de la infección (Crespo y Delgado 2005).

2.2.3. Candidiasis

La candidiasis es una infección de tipo primaria y secundaria, capaz de comprometer cualquier tejido del organismo provocado por hongos levaduriformes del género *Cándida*.

Cándida albicans es la especie responsable de la gran mayoría de los casos a diferencia de otros hongos cuya fuente es el ambiente. El reservorio del género *Cándida* es por lo general la propia flora endógena del paciente.

Los hongos del género *Cándida* incluyen más de 200 especies, las cuales más de una veintena son patógenas para el hombre. Estas levaduras que pueden encontrarse en la piel o en las mucosas pueden afectar a individuos con buena salud, aunque suele aprovechar un desequilibrio de la epidermis para instalarse. La candidiasis cutánea afectan principalmente a las zonas de mayor transpiración; axilas, en lo concerniente a las mucosas, cavidad bucal, mucosa vaginal y esófago (personas inmunodeprimidas), son las zonas más propensas a sufrir una infección. Las candidiasis genitales se atribuye en la mayoría de los casos a la especie *Cándida albicans*.

El hongo *Cándida albicans* puede producir infecciones en diferentes partes de nuestro cuerpo. La vagina es una de las más frecuentes. Es un microorganismo que se encuentra de forma habitual en nuestro cuerpo sin producir enfermedad (Triviño y Col., 2005).

2.3. Fármacos antimicóticos

2.3.1. Sitio de acción de los antimicóticos

Las levaduras son eucariontes, por lo tanto se difieren mucho de las bacterias en cuanto a su estructura, en la mayoría de los casos, el fármaco antimicótico actúa en la membrana citoplasmática del hongo, específicamente en la síntesis del

ergosterol, esto ocurre por ejemplo con la familia de los polienos, a la que pertenecen la anfotericina B y la nistatina, y con la familia de los azoles, que son los fármacos más utilizados en clínica. La familia de las alilaminas, entre las cuales destaca la terbinafina, también bloquea a la síntesis del ergosterol.

2.3.2. El Ergosterol

Es un componente lipídico de la membrana sobre el cual actúa la mayoría de los fármacos antimicóticos. Es el esterol que predomina en las células fúngicas y entre sus funciones está dar fluidez e integridad a la membrana.

La pared celular, es otro sitio de acción importante, es una estructura muy compleja, compuesta en 90% por polisacáridos y en 10% a 20% por lípidos y glicoproteínas, del punto de vista morfológico determina las distintas formas del hongo, además les permite interactuar con el medio ambiente y protege a este de la lisis osmótica (Bennet, 1991).

2.3.3. Ketoconazol

Es un antifúngico utilizados en el tratamiento de infecciones producidas por hongos y levaduras, que estas pueden ocurrir en cualquier parte de nuestro cuerpo, como; infecciones de la vagina persistente, infecciones de la piel, pelo, estomago, intestino y otros órganos. El ketoconazol también se puede prescribir para prevenir infecciones por hongos en personas cuyas defensas naturales están seriamente dañadas.

Para ayudar a curar su infección completamente, es muy importante que siga exactamente con el tratamiento por el plazo fijado, aunque sus síntomas empiecen a desaparecer o se sienta mejor después de unos días. Este medicamento funciona mejor cuando hay una cantidad constante en la sangre de medicamento para ayudar a este proceso es mejor tomar la dosis exacta a

la hora indicada. Este medicamento no se debe tomar con Astemizol (Himanal), Cisaprida (Propulsad), o medicamentos que contengan Terfenadina. El hacerlo puede aumentar el riesgo de efectos secundarios serios que afecten el corazón y podría poner en riesgo su vida.

Este medicamento no se debe tomar con antiácidos; omeprazol (Prilosec) o ranitidina (Zantac), mientras está tomando el ketoconazol, tómelos al menos dos horas después del ketoconazol, por que impedirán que el ketoconazol funcione correctamente. Puede que sea más probable que ocurran problemas de hígado si toma bebidas alcohólicas mientras esté tomando este medicamento (Bennet, 1991).

2.3.4. Fluconazol

El fluconazol se emplea en tratamiento de la infecciones fúngicas, es decir, aquellas ocasionadas por hongos como; *Candida albicans*, en la vagina, la boca, la garganta, el abdomen, el esófago, la sangre o los pulmones, entre otros órganos. El fluconazol también se muestra eficaz para combatir la infección que afecta a la membranas que cubren el cerebro y la medula espinal, igualmente se emplea en paciente como medida profiláctica ante las infecciones por levadura en paciente que están recibiendo quimioterapias o radioterapia previa a un trasplante medular espinal.

La utilización adecuada se llevará dependiendo de la enfermedad de que se trate:

Para meningitis o las infecciones por criptococo, la dosis que se prescribe será de 400 mg el primer día para una duración que oscilará entre seis y ocho semanas y con tomas diarias de 200 mg a 400 mg.

Por lo que respecta a la candidiasis vaginal se administrará una única dosis de fluconazol de 150 mg. En los casos de candidiasis vaginal recurrente deberá administrarse una dosis de 150 mg una vez al mes.

Para infecciones dérmicas, la dosis recomendada mientras que para la tiña versicolor (pitiriasis) la dosis debe ser de 300 mg durante dos o tres semanas.

En el tratamiento de micosis profundas endémicas pueden ser necesarias dosis de 200 a 400 mg. diarios por un periodo que puede durar hasta dos años, aunque los tratamientos deben ser individualizados (Friedlander, 1999).

El fluconazol, se ha empleado escasamente hasta la fecha en mujeres embarazadas, por lo que no existe demasiada información en cuanto a sus efectos. Se recomienda evitar su empleo. Por lo que respecta a la lactancia, el fluconazol se excreta en la leche materna, razón por la que tampoco se recomienda su utilización en mujeres en periodo de lactancia.

El fluconazol, como todos los medicamentos, puede tener ciertos efectos secundarios. Los más habituales son: diarrea, dolor, acidez estomacal, mareos.

También es posible, aunque menos frecuente, que se presenten otros síntomas que pueden entrañar un mayor peligro para la salud. En este caso hay que ponerse de inmediato en contacto con el médico. Entre dichos síntomas tenemos: pérdida de apetito, cansancio externo, sangrado o moretones fuera de lo común, dolor en la parte superior derecha del abdomen, síntomas semejantes a la gripe común (Friedlander, 1999).

2.3.5. Terbinafina

La terbinafina, es un antimicótico de amplio espectro, formulado para combatir dermatofitos y algunas infecciones por levaduras. Coloquialmente es un medicamento eficaz para quitar el hongo de *Cándida albicans* en las uñas.

El mecanismo de acción de este fármaco consiste en inhibir a la enzima escualeno dos - tres epoxidasa, por lo que interfiere en la etapa temprana de la síntesis del ergosterol, la cual es el componente fundamental de la membrana del hongo, llevando a una deficiencia de ergosterol y a una acumulación de escualeno, dando como resultado la muerte celular.

Los efectos secundarios, por lo general son muy bien tolerados, teniendo algunos efectos leves, moderados y transitorios como podrían ser sensación de saciedad, pérdida de apetito, dispepsia, náuseas, dolor abdominal leve, diarrea, sarpullido y urticaria. Puede causar hepatitis colestásica en aproximadamente uno de cada 50 000 tratamientos. Es una hepatitis grave con una mortalidad del 15% y se cronifica en el 50% de los casos.

Las reacciones adversas de las formulaciones tópicas de este fármaco son bien toleradas. En los estudios clínicos realizados, solo se detectaron reacciones adversas posiblemente asociadas a la terbinafina en el 2% de los casos. Los casos más frecuentes fueron irritación y urticaria, efectos secundarios que se presentaron en un 1% después de la administración de la terbinafina oral, se han descrito reacciones adversas hasta en el 17% de los pacientes. Las más frecuentes son las que tiene lugar a nivel intestinal estando representadas por el dolor abdominal. Diarrea. Náuseas/vómitos y dispepsia. En el 2 - 3% de los pacientes se han observado cefaleas y mareos y, en el mismo porcentaje, elevación de las transaminasas. Estas reacciones adversas se suele desarrollar en las cuatro a seis semanas después de iniciar un tratamiento. Se debe considerar una exploración hepática si el paciente desarrolla síntomas tales como náuseas, anorexia fatiga, ictericia o colestasis (Wikipedia, 2012).

2.4. *Xanthium catharticum* H.B.K “amor seco”

La clasificación taxonómica de la planta es la siguiente:

División : MAGNOLIOPHITA
Clase : MAGNOLIOPSIDA
Subclase : ASTERIDAE
Orden : ASTERALES
Familia : ASTERACEAE
Género : XANTHIUM
Especie : *Xanthium catharticum* H.B.K
Nombre común : “amor seco”

Fuente: Certificado del Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, 2012 (Anexo N°1).

2.4.2. Descripción botánica

Xanthium catharticum H.B.K. “amor seco” en una planta anual, perteneciente a la familia de las compuestas (Asteráceas), se caracteriza por presentar una altura de hasta 60 cm, provista de un tallo erecto con espinas trifurcadas, amarillas, largas; las hojas son alternas, lanceoladas, con pecíolos cortos, ápice agudo y márgenes enteros o provistos de un par de lóbulos en la base. Los capítulos florales son unisexuados, presentándose los masculinos en forma de espigas terminales, y los femeninos por un involucre cerrado, ovoideo, cubierto de espinas en forma de gancho con dos picos superiores, por donde asoman los estilos de sus dos únicas flores.

Su hábitat es América del Sur extendiéndose desde Colombia hasta Chile, florece desde verano hasta principios de otoño, en el Perú es una maleza muy frecuente y molesta por sus espinas (Abundio y Leiva, 1993).

2.4.3. Características botánicas

La raíz es pivotante, corta de unos 15 cm de largo, con numerosas raicillas laterales. El tallo es de unos 60 cm de alto, erectos o ascendentes más o menos ramificados, provistos de tres espinas trifurcadas largas y de color amarillo. Las hojas son lanceoladas en su contorno total, profundamente pinnatilobadas o pinnatisectas. Las flores son en capítulos femeninos bifloros, cilíndricos obtusos densamente espinosos, ganchudos, exiliares en la parte inferior de las ramas. Capítulos masculinos en espigas o glomérulos dispuestos axilarmente en la parte superior de las ramas. Los frutos de tipo involucro fructífero de ocho a 12 mm de largo por tres a cuatro mm de diámetro, con púas finas y ganchudas; las cuales al madurar y todo el involucro que lo rodea ha adquirido el endurecimiento cabal (Abundio y Leiva, 1993).

2.4.4. Distribución geográfica

De acuerdo a la bibliografía consultada, existen alrededor de 30 especies distribuidas por todo el mundo, todas son consideradas como malezas y con una gran facilidad para su difusión, debido a sus pseudo frutos provistos de espinas ganchudas, gracias a las cuales se adhieren al pelaje de los animales (Culven, 1989).

2.4.5. Composición química

La fitoquímica evidencia que la composición química de las plantas medicinales es muy compleja y entre las sustancias producidas se encuentran a los alcaloides, aceites esenciales, terpenoides, flavonoides, glucósidos, camarinas, lactonas, etc (Dominguez, 1973).

Hinostroza (1997), en su tesis de investigación del *Xanthium spinosum* ha detectado la presencia de flavonoides, esteroides, taninos, alcaloides y anillos aromáticos.

2.4.6. Usos tradicionales

Romero (2006), evaluó plantas medicinales con propiedades antioxidantes en la Provincia de Huamanga y determinó que las hojas y tallos en infusión del Género *Xanthium* son usados como desinflamante, cicatrizante, lavando la herida con la planta entera hervida.

Según el estudio del Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia de Madrid, se demostró que hojas, tallos, raíz y frutos del género *Xanthium*, son utilizados en la medicina tradicional principalmente por sus propiedades; coleréticos hepáticas, laxantes suaves, cicatrizantes de heridas, antiinflamatorio y diuréticas, como también contra el mal de pulmones, hígado, riñones y para tratar enfermedades venéreas.

2.5. Importancia y propiedades farmacológicas de los metabolitos secundarios

Metabolitos secundarios, se denomina a las sustancias responsables de la actividad farmacológica de una droga y así por ejemplo la atropina es el principio activo de la belladona. La utilización de principios activos se prefiere en virtud de las siguientes ventajas, comodidad y facilidad de administración perfecta, dosificación, acción rápida, posibilidad de utilización parenteral al estar en estado de pureza pero hay casos no obstante que en la actividad puede ser mayor con la droga que con algunos de sus principios activos (Lock de Ugaz, 1994).

2.5.1. Flavonoides

Son en su mayoría pigmentos responsables de la coloración de numerosas flores y algunos frutos. En este grupo de compuestos encontramos los: flavonoles, flavona, flavonona, isoflavona y sus respectivos derivados. (Limaylla, 1985). Cada una de las clase de flavonoides, suele encontrarse bajo la forma de glucósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos tres y/o siete, siendo los azucares más comunes; la glucosa, galactosa, ramosa, xilosa y arabinosa.

Cuando nos referimos a las propiedades biológicas, decimos que la propiedad más importante atribuida a los flavonoides, es la "vitamina P" (factor vitamínico P). La acción farmacológica de los flavonoides también es extensa y variada, tiene acción contra la fragilidad capilar o vasos sanguíneos delgados, además son cicatrizantes. Influyen en determinados trastornos cardiacos y circulatorios, son relajantes del músculo liso (aparato digestivo). Tienen acción antioxidante, antiinflamatoria, diurética y antimicrobiana. (Bruneton, 1991).

2.5.2. Cumarinas

Las cumarinas son compuestos ampliamente distribuidas en todas las partes de la planta, desde la raíz, flores y frutos siendo más importantes en estas últimas, se presenta a menudo como mezclas, en forma libre o como glucósidos. A las cumarinas se les atribuye diversas actividades farmacológicas tales como: acción anticoagulante y antibacterial del dicumarol, acción insecticida cabe destacar también aplicaciones de la cumarinas como saborizante y en la perfumería (Limaylla, 1985).

2.5.3. Triterpenos y esteroides

Los triterpenos se encuentran muy difundidos en la naturaleza, principalmente en el reino vegetal. Los esteroides constituyen un grupo de productos de origen vegetal y animal, comprende una gran variedad de compuestos tales como; esteroides, glucósidos cardiotónicos, sapogeninas y hormonas sexuales.

El interés terapéutico e industrial de los triterpenos y esteroides es el siguiente:

- Interés de los glucósidos cardiotónicos, las cuales no se ha podido todavía sustituir por ningún producto sintético.
- Los esteroides tienen actividad antiinflamatorias sobre todo en inflamaciones cutáneas (Litter, 1996).
- Los esteroides son materias primas difícilmente reemplazadas, para cubrir las necesidades de la industria farmacéutica en hormonas esteroídicas (Bruneton, 1991).

2.5.4. Alcaloides

Los alcaloides son constituyentes más importantes de las plantas, son principios nitrogenados de función básica que encuentran disueltos en el jugo celular o en líquidos de secreción de los órganos vegetales y combinados con diferentes ácidos bajo la forma de sales. La mayoría de las familias botánicas, no contiene alcaloides sino únicamente indicios. Sin embargo si contienen este principio las monocotiledóneas, ubicado frecuentemente en las hojas, frutos y semillas. Ejemplo la atropina de la belladona, morfina del opio, codeína, papaverina, etc. (Evans y Trease, 1991).

2.5.5. Taninos

Los taninos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, en casi todas las familias vegetales existen especies que la contiene. Cuando se presentan en cantidades considerables, los taninos suelen localizarse en determinadas partes de las plantas, como las hojas, los frutos, la corteza o el tallo. Si bien aparecen a menudo en los frutos inmaduros, los taninos suelen desaparecer durante la maduración. Los taninos son compuestos químicos no cristalizados que forman con el agua soluciones coloidales de reacción acida y de sabor muy acre; los taninos precipitan las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistente a las enzimas proteolíticas; aplicado a los tejidos vivos, esta acción se conoce como acción astringente y constituye la base para la acción terapéutica (Evans y Trease, 1991).

2.5.6. Saponinas

Las saponinas están constituidas por grandes moléculas orgánicas, como esteroides triterpenos, unidas a una o varias azúcares, por lo que contienen los elementos necesarios para emulsionar la grasa: una parte lipofílica, que es el esteroide o triterpeno, por medio del cual se unirá a la grasa, y una parte hidrofílica, que es el azúcar, por medio del cual se unirá al agua. Entre las saponinas de naturaleza esteroideal son muy importante los glucósidos cardiacos y es muy útil en el tratamiento de enfermedades del corazón. Sin embargo, un exceso de estas sustancias es peligroso y puede causar incluso la muerte. Las saponinas se componen de glucósidos que contienen material inicial para síntesis de corticoides andrógeno y estrógeno (Lock de Ugaz, 1994).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) “Marco Antonio Garrido Malo” del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de junio a octubre del 2012.

3.2. Población

Hojas del *Xanthium catharticum* H. B. K. “amor seco” que crecen en los exteriores de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga que colinda con el Asentamiento Humano, San Carlos del distrito de Jesús Nazareno del departamento de Ayacucho.

3.3. Muestra

Una cantidad de tres Kilogramos de hojas secas del *Xanthium catharticum* H. B. K. “amor seco” recolectadas en horas de la mañana, durante el mes de junio del 2012, a partir de las cuales se realizó el extracto hidroalcohólico.

3.4. Material biológico

Para determinar la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* se utilizó las cepas del hongo *Cándida albicans* (clínicamente analizado).

Muestra donada por el Instituto Nacional de Salud (INS) de la ciudad de Lima.

3.5 Métodos para la recolección de datos

3.5.1. Preparación de la muestra

- Se lavó adecuadamente las hojas del *Xanthium catharticum* H. B. K. "amor seco" con una solución de Hipoclorito de Sodio al 0,1%.
- Luego se colocó sobre un soporte de papel y se secó a temperatura ambiente, posteriormente se seleccionaron las mejores muestras.
- Se procedió a la molienda y de esta manera quedó apto para la realización del tamizaje fitoquímico y el análisis farmacológico.

3.5.2. Obtención del extracto hidroalcohólico del *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco".

Un kilogramo de muestra molida se pasó por diferentes números de tamices hasta que se obtuvo una mezcla uniforme y homogénea, luego se pesó 500 g de muestra, se colocó en un recipiente de vidrio y adicionó 1200 mL de alcohol al 70°C como disolvente, se maceró por 24 horas, transcurrido el tiempo, se transfirió la muestra al percolador, y se procedió a la extracción a razón de 20 gotas por minuto. Luego se añadió más solvente y se repitió el proceso.

Se realizó la extracción de la planta durante seis días al término del cual se procedió a concentrar toda la muestra extraída en baño maría a una temperatura de 50°C, obteniéndose un residuo grasoso de color verde oscuro libre de

alcohol del cual se tomó porciones para realizar el tamizaje fitoquímico (Miranda y Cuellar, 2000).

3.5.3. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto

Una vez obtenido el extracto hidroalcohólico, se evaluó los parámetros fisicoquímicos que definió la calidad de los mismos, que a continuación señalamos:

a) Determinación de las características organolépticas

Color: Se utilizó cantidad suficiente de muestra en una luna de reloj, se colocó en un fondo blanco, para observar y determinar el color.

Olor: Una cantidad suficiente de muestra se colocó en una luna de reloj, para percibir y determinar el tipo de olor.

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.

b) Identificación de compuestos químicos

La identificación de los diferentes compuestos químicos (metabolitos secundarios) del extracto hidroalcohólico del *Xanthium catharticum* "amor seco", se realizó siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuéllar (2000).

c) Determinación de la solubilidad

Solubilidad en agua: En un tubo de ensayo se tomó un mL de agua destilada, luego se añadió un gramo de muestra, agitándose fuertemente, y se observó que la muestra es bastante soluble en agua.

Solubilidad en alcohol: En un tubo de ensayo se colocó un mL de alcohol etílico de 70°C, luego se añadió un gramo de muestra, agitándose fuertemente, y se observó que la muestra es soluble en alcohol.

d) Determinación de pH.

Para determinar el pH de la muestra se utilizó tiras reactivas de pH, colocándose una determinada cantidad de muestra en un vaso de precipitado, el cual diluimos para introducir la tira reactiva el cual dejamos reposar por unos minutos al cabo del cual se retiró el papel y se comparó con el estándar de referencia para determinar su acidez o basicidad.

e) Determinación del contenido de humedad.

Se pesó dos gramos del extracto hidroalcohólico de la muestra de ensayo con desviación permisible de 0.5 mg y se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105°C hasta masa constante, seguidamente desecar la muestra a 105°C durante 3 horas. Una vez que pase el tiempo retiramos la cápsula dejamos enfriar a temperatura ambiente y pesamos, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante (Miranda y Cuellar, 2000).

Cálculo:

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

Donde:

Hg = Pérdida en 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.

3.5.4. Tamizaje fitoquímico

Luego de obtenido el extracto hidroalcohólico, se procedió a la identificación cualitativa de los componentes presente en *Xanthium catharticum* H. B. K. "amor seco" a través de reacciones de coloración o precipitación (Miranda y Cuellar, 2000).

a) **Prueba de identificación de alcaloides.**- Se utilizó gotas de extracto de la muestra para la determinación de alcaloides, con tres gotas de los diferentes reactivos; Dragendorff, Wagner y Mayer, dieron reacciones de coloración y precipitación, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado(+++).

b) **Prueba de identificación de flavonoides.**- La reacción de Shinoda se realizó tomando unas gotas de muestra, se le agregó HCl (c) y trocitos de magnesio metálico. La presencia de una coloración naranja - rojiza es positiva.

c) **Prueba de identificación de taninos y fenoles (Reacción con cloruro férrico).**- A un mL de extracto, se le adicionó gotas del reactivo de cloruro férrico al 1%, visualizándose coloraciones azul verdosa, verde, para la prueba positiva.

d) **Prueba de identificación de saponinas (Prueba de espuma).**- A un tubo con material seco o pulverizado, se le agregó el doble de volumen de agua destilada, se sacudió durante 30 segundos, la presencia de espuma persistente por más de 30 minutos da la prueba positiva.

e) **Prueba de identificación de lactonas (Ensayo de Baljet).**- Se pesó una cantidad de extracto seco y se disolvió en un mL de alcohol, luego adicionar un mL del reactivo considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitación rojo.

f) **Prueba de identificación de triterpenos y esteroides (Ensayo de Lieberman Burchard).**- A una alícuota de muestra se adicionó un mL de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar dos a tres gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por cambio rápido de coloración

Rosado – azul muy rápido.

Verde intenso – Negro final de la reacción

Verde oscuro – Negro final de la reacción

g) **Prueba de identificación de quinonas (Ensayo de Borntrager).**- Pesar una cantidad de extracto seco y disolverlo en cloroformo, luego se adicionó un mL de hidróxido de sodio al 5% en agua. Se agitó mezclando las fases y dejó reposar hasta su separación, si la fase alcalina (superior) colorea de rosados o rojo, el ensayo se considera positivo (Miranda y Cuellar, 2000).

3.6. Actividad antimicótica

La actividad antimicótica, se utiliza para evaluar la actividad inhibitoria de una planta o de sus derivados. La actividad biosida se define como " la capacidad que tiene 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 nacional y mundial ya que mediante ellos se puede controlar y hasta eliminar las infecciones provocadas por los microorganismos, para este tipo de evaluación es preciso conocer el modelo antimicótico perfectamente y tenerlo controlado en las condiciones de laboratorio, ya sea por procedimientos *in vitro* o *in vivo*.

Método 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 se usa como un procedimiento cualitativo y semicuantitativo y a veces cuantitativo, donde generalmente los microorganismos son categorizados como resistentes, intermedio o susceptibles para cada agente microbiano, estos son aplicados en forma de discos de papel filtro y se conoce como el método de Bauer- Kirby, (difusión en placas) (Cárdenas, 2008).

a) Obtención de cepas. Las cepas fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Salud (INS). La especie fue el hongo *Cándida albicans*.

b) Preparación de agar Mueller Hinton.- Se diluyó 38 g de agar en un litro de agua purificada, se calentó con agitación constante hasta su completa disolución y se hirvió durante un minuto. Se esterilizó en autoclave a 121°C (15 libras de presión). Se preparó 40 placas conteniendo ocn a 14 mL de agar Mueller Hinton y se incubó a 37°C por 24 horas. Se repicó por el método de estrías el cultivo madre de *Cándida albicans*, proporcionados por el Instituto Nacional de Salud, en dos placas que contenían el agar y se incubó a 37°C por 24 horas. Las colonias formadas se inocularon en tubos que contenían caldo nutritivo Peptona y se incubaron a 37°C por 24 horas. Se tomó 0,8 mL de cultivos de hongos y se incorporó en las placas que contenían Agar Mueller Hinton y se esparció con la espátula de Drigalsky. Luego se colocó el disco de sensibilidad de Terbinafina, enseguida se llevaron a incubar a 37°C por 24 horas. Luego se impregnaron discos de papel celulosa de seis mm de diámetro y 0,6 mm de grosor con las diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico de 0,5%; 1% y 2% y se incorporó en las placas que contenían Agar Mueller Hinton, enseguida se llevaron a incubar a 37°C por 24 horas. Luego se interpretó la actividad, que se determinó por el diámetro del halo de inhibición: seis mm es negativo; seis-nueve mm es intermedio y mayor a nueve mm es positivo (Cáceres, 1996).

c) Preparación del caldo nutritivo (Peptona).- Se pesó dos gramos de caldo Peptona y se disolvió en 100 mL de agua purificada, se calentó hasta completa disolución. Se esterilizó en autoclave por 15 minutos y vaciar en tubos de ensayo estériles.

d) Procedimiento del cultivo.- El cultivo se realizó de la siguiente manera teniendo en cuenta las buenas prácticas de bioseguridad.

Se tomó colonias de la cepa madre con el asa de Kolle y se siembra en las dos placas petri preparadas con el agar en forma rectas para los cuatro lados de las placas, se dejó incubar por 48 horas a 37°C.

Luego de las 48 horas, se tomó de las placas, pequeñas colonias crecidas con el asa de Kolle y se llevó a los tubos de ensayo conteniendo el caldo de peptona para su replicación y su fácil manipulación, se llevó a incubar por 48 horas para su replicación, así protegiendo la cepa madre

De los tubos de ensayo con las cepas replicadas, se tomó 0,5 mL de muestra y se incorporó a las placas petri preparadas con el agar, con la espátula de Drigalsky se procedió a su diseminación por toda la placa, dejando incubar por 48 horas a 37°C.

Después de las 48 horas de incubación se procedió a colocar las muestras de las cepas de *Cándida albicans* en los discos y dejarlos por 48 horas a 37°C.

Se procedió a la lectura mediante el halo de inhibición de los discos en milímetros.

3.6.1. Evaluación del efecto antimicótico

Se usó papel celulosa estéril, se llevó a embeber con el extracto hidroalcohólico por tres veces, luego se colocó en las placas petri ya preparadas con la cepa de

Cándida albicans, se llevó a incubar por 48 horas a 37°C. Luego de ese tiempo se hizo la lectura mediante el halo de inhibición de los discos en milímetros.

Las placas fueron sembradas por incorporación, luego se pondrán los discos ya preparados sobre el medio de Mueller Hinton, enseguida se llevó a incubar a 37°C por cinco días, al cabo de este tiempo se hizo la lectura del halo de inhibición de los discos en milímetros usando un Vernier (Cárdenas, 2008).

Se compararon los mm de halo de inhibición de los tratamientos y se calculó el porcentaje de inhibición frente a la Terbinafina.

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{\text{Tratamiento} - \text{blanco}}{\text{Standar}} \times 100$$

3.7. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de los parámetros físicos y químicos del extracto hidroalcohólico se presentarán en tablas y gráficos.

De la evaluación de la actividad antimicótica de los extractos a diferentes concentraciones, se calculó los promedios de halo inhibición (mm) y el porcentaje de inhibición frente a las diferentes concentraciones de Terbinafina 0,5; 1,0 y 2,0 gramos en 2 ml respectivamente (control positivo). Se realizó el análisis de varianza para identificar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) y comparaciones múltiples del Duncan de los promedio de halos de inhibición.

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{\text{Tratamiento} - \text{blanco}}{\text{Terb}} \times 100$$

IV. RESULTADOS

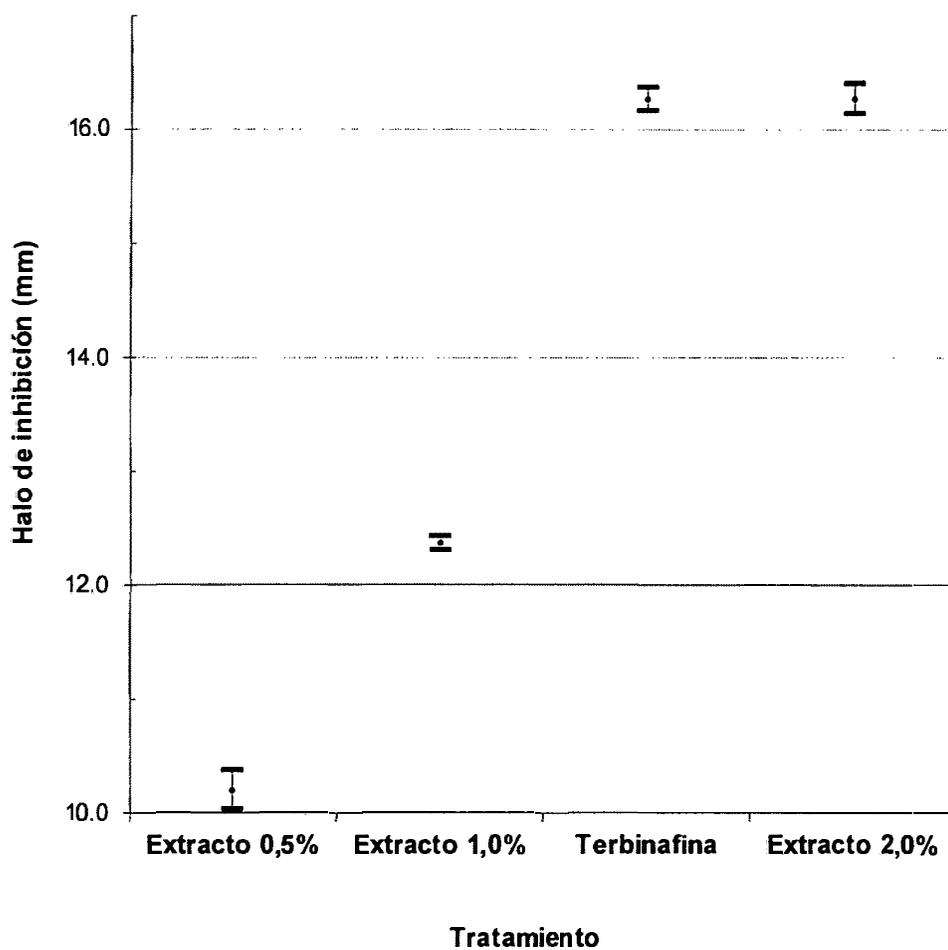
CUADRO N° 01. Parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Xanthium catharticum* H. B. K. "amor seco". Ayacucho - 2012.

PARÁMETROS	ENSAYOS	RESULTADOS
Organoléptico	Color	Verde oscuro
	Olor	<i>Sui generis</i>
	Sabor	Amargo
	Aspecto	Líquido homogéneo
Solubilidad	Agua	Bastante soluble
	Metanol	Poco soluble
	Cloroformo	Prácticamente insoluble
Humedad	Perdida por desecación	6,81 %
Cenizas	Cenizas totales	5,24%
pH	Extracto hidroalcohólico	7,23
Rendimiento(%)	Sólidos totales	13,62%

CUADRO N° 02. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Xanthium catharticum* H. B. K. "amor seco". Ayacucho – 2012

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
Azúcares reductores	Fehling	+	Precipitado rojo
Lactonas y/o Cumarinas	Baljet	+	Coloración roja amarillo intenso, con posterior precipitado
Alcaloides	Dragendorff	+	Precipitado marrón
	Mayer	++	Precipitado marrón
	Wagner	++	Precipitado amarillo
Quinonas	Bontrager	++	Coloración roja en la fase amilca
Flavonoides	Shinoda	++	Coloración naranja - rojiza
Triterpenos y Esteroides	Lieberman-Burchard	+++	Formación de dos fases la superior de color claro y la inferior color rosado
Fenoles y Taninos	Cloruro férrico	++	Coloración azul - verdosa
Saponinas	Espuma	++	Formación de espuma

Leyenda; (-): Negativo (+): Escasa (++) : Buena (+++) : Excelente



ANVA: $p < 0,05$

GRÁFICO N° 01. Variación de los halos de inhibición por efecto de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* "amor seco", frente a *Cándida albicans*. Ayacucho - 2012.

CUADRO N° 03. Resultado de las comparaciones múltiples de Duncan de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* "amor seco" frente a *Cándida albicans*. Ayacucho - 2012.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos		
		1	2	3
Extracto hidroalcohólico 0,5%	3	10,2067		
Extracto hidroalcohólico 1,0%	3		12,3767	
Terbinafina	6			16,2700
Extracto hidroalcohólico 2,0%	3			16,2800
Sig.		1,000	1,000	,870

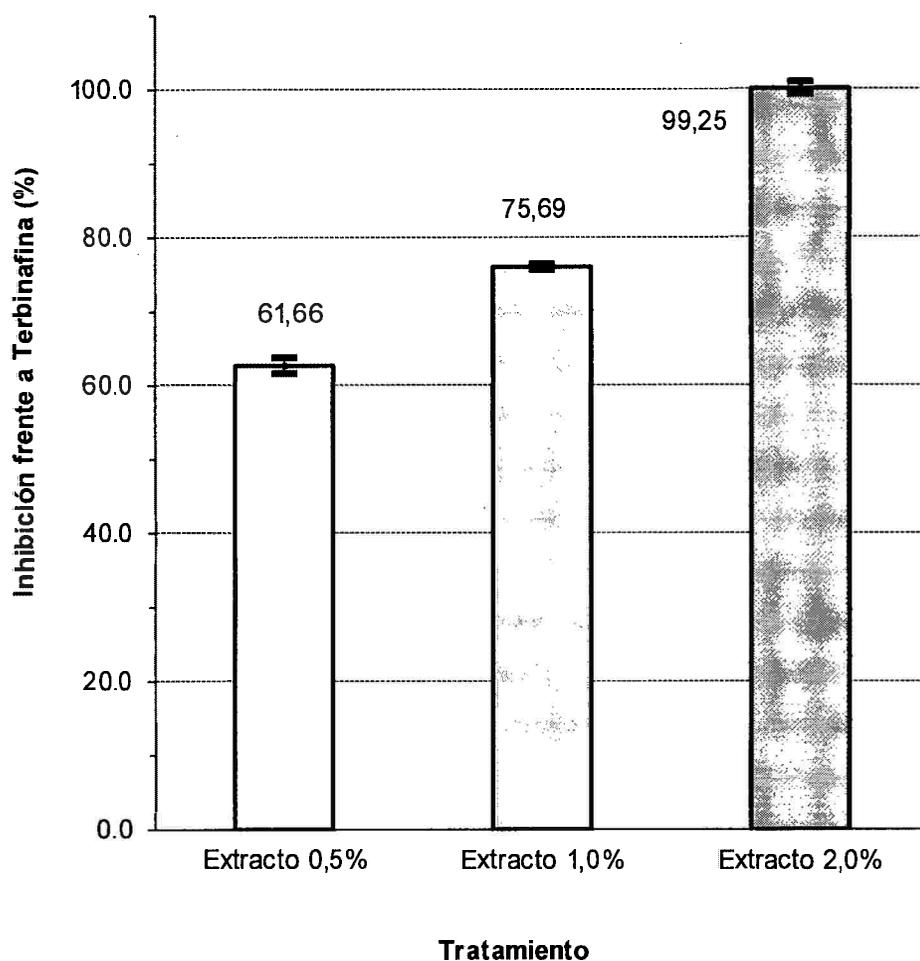


GRÁFICO N° 02. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* "amor seco" frente a *Cándida albicans* en comparación con la Terbinafina. Ayacucho - 2012.

V. DISCUSIÓN

En el Cuadro N° 01, el extracto hidroalcohólico presenta 6,8% de humedad; 5,24% de cenizas y un rendimiento (sólidos totales) de 13,62%. El extracto es de color verde oscuro, de olor *sui géneris*, sabor amargo y de aspecto homogéneo, bastante soluble en agua y tiene un pH de 7,23.

En el Cuadro N° 02, se reporta el análisis de los metabolitos secundarios que se identificaron en el extracto hidroalcohólico del *Xanthium catharticum* H.B.K "amor seco" fueron: flavonoides, cumarinas, triterpenos, esteroides, alcaloides, taninos, saponinas, azúcares reductores y quinonas; demostrándose que en el proceso de percolado no se pierden los metabolitos secundarios responsables del efecto farmacológico. Así mismo se pudo comprobar que los metabolitos secundarios hallados en el extracto hidroalcohólico son los principales responsables de la actividad antimicótica.

En el Cuadro N° 03, se presenta los resultados de las comparaciones múltiples de Duncan de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* "amor seco" frente a *Cándida albicans*, (clínicamente definido) y demostrar la actividad antimicótica con concentraciones de 0,5%; 1% y 2% del extracto hidroalcohólico. De los

resultados podemos mencionar que el extracto hidroalcohólico al 0,5% presenta una media de halo de inhibición de $10,2067 \pm 0,041$ mm; el extracto hidroalcohólico al 1,0% presenta una media de $12,3767 \pm 0,015$ mm y el extracto hidroalcohólico al 2,0% un valor de $16,2800 \pm 0,31$ mm. Estos resultados fueron comparados con Discos de sensibilidad de Terbinafina (250 mg), Ketoconazol (250 mg) y Fluconazol (150 mg) presentando valores de los halos inhibición de 16,28 mm y los dos restantes no teniendo actividad frente a este tipo de hongo.

Así podemos concluir que el extracto hidroalcohólico de “amor seco” posee actividad antimicótica, tiene valores de halo de inhibición mayores a 6 mm (Cáceres, 1996) y que la actividad depende de la concentración del extracto (Gráfico1). También podemos observar que la actividad del extracto hidroalcohólico es superior a los discos de sensibilidad, esto debido posiblemente a que sus cantidades de concentraciones son inferiores, con respecto a la cantidad de extracto utilizado, (Cuadro N° 04), siendo altamente significativo e indicativo que existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los halos de inhibición de los tratamientos. Al realizar las comparaciones de Duncan podemos observar que el extracto hidroalcohólico al 2% presenta halos de inhibición estadísticamente similares y superior al tratamiento con terbinafina. En el Gráfico N° 02, se muestra los resultados del porcentaje de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico “amor seco” frente al disco de sensibilidad de la Terbinafina, demostrando que hay relación concentración actividad, quiere decir que a mayor concentración del principio activo de las hojas de *Xanthium catharticum*, mayor será el porcentaje de inhibición frente a los hongos de *Cándida albicans*.

Se aprecia que la coloración naranja-rojiza de la reacción Shinoda de la planta entera son positivas e indica la presencia de flavonas (Cuadro N° 02), así

cuando presenten una coloración anaranjada- roja se supone que hay presencia de flavonas, flavononas, flavonoles, flavonoides o xantonas. La coloración amarilla indica la presencia de flavononas y flavonoles, la coloración verde con el reactivo de FeCl_3 1% también indica la existencia de este principio activo; las chalconas y auronas forman coloraciones rojo-guinda. Las flavonas tienen importancia farmacológica bajo la forma de glucósidos y presentando el grupo de carbonilo en C-4 características que le confiere a la actividad farmacológica (Martínez, 2005).

La prueba de Bortrager para quinonas dió positiva, ésta tiene la capacidad de formar complejos irreversibles con los aminoácidos y nucleófilos de la proteína que establece su potencial como agente antimicrobiano. Así mismo, y de manera secundaria pueden inducir a la formación de sustratos no asimilables por los microorganismos. Las flavonas, flavonoides y flavonoles, son producidas de manera natural por las plantas como respuesta a procesos infecciosos, por lo que no se extraña que haya demostrado *in vitro* su eficacia antimicrobiana frente a una amplia variedad de microorganismos. Su actividad es debida probablemente, a su capacidad para formar complejos con proteínas solubles extracelulares y con la pared celular de la bacteria, de forma análoga a las quinonas. Los flavonoides poseen así mismo efectos inhibitorios frente a múltiples virus. Existen numerosos estudios que demuestran su eficacia frente al Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). Las cumarinas tienen propiedades antimicrobianas por su capacidad estimuladora de macrófagos que incide de forma directa en el proceso infeccioso. Algunas de ellas se han empleado por sus efectos antivíricos, mientras que otros, como los ácidos hidroxicinámicos, son inhibitorias de microorganismos gran positivos y la fitoalexinas, derivado hidroxilados de las cumarinas tienen actividad antifúngica (Rafael, 2012).

Las cumarinas, son compuestos ampliamente distribuidos en todas las partes de las plantas, se consideran todo un grupo de metabolitos secundarios de las plantas que comparten la misma vía biosintética y esqueleto químico y se encuentran en mayor concentración en las flores y frutos y se presentan a menudo como mezclas, en forma libre como glucósidos. Así mismo, se les atribuye diversas actividades farmacológicas tales como; acción anticoagulante y antibacterial del dicumarol, acción insecticida y también como saborizantes y en la perfumería (Limaylla, 1985).

Cowan (1999), sostiene que la actividad antimicrobiana de los taninos se debe a su interacción sobre las adhesinas de microorganismos, proteínas de la pared celular de las bacterias, y a su capacidad de unirse a los polisacáridos. Los estudios publicados reflejan que los taninos también pueden ser tóxicos frente a hongos filamentosos y levaduras. Los taninos condensados son capaces de unirse a la pared celular de las bacterias presentes en el resumen de los herbívoros, impidiendo su crecimiento y actividad proteasa. Los fenoles ácidos y ácidos fenólicos, en especial el ácido caféico es eficaz frente a bacterias, hongos y virus. La posición en el número de grupo hidroxilo del grupo fenol, parecen influir en el efecto antibacteriano de tal forma que a mayor grado de hidroxilación mayor poder tóxico y mayor poder inhibitorio.

El mecanismo responsable de efecto antimicrobiano de los fenoles parece estar relacionado con procesos de inhibición enzimáticas por parte de los compuestos oxidados, posiblemente a través de reacciones de grupos sulfhídricos o a través de interacción con proteínas (Rafael, 2012).

Palomino (2000), señala que la existencia de un halo de inhibición aunque sea pequeño, cuando se trabaja con material vegetal determina cierta actividad

antibacteriana que puede ser mejorada con el uso de nuevas técnicas de extracción a fin de conseguir mayor concentración de principios activos.

VI. CONCLUSIONES

1. Los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco" fueron: 6,81% de humedad; 5,24% de ceniza y un rendimiento de (sólidos totales) 13,62%. El extracto fue de color verde oscuro, de olor *sui géneris*, de sabor amargo, aspecto homogéneo, bastante soluble con el agua y tenía un pH de 7,23.
2. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco" fueron azúcares reductores, cumarinas, alcaloides, flavonoides, saponinas, fenoles, taninos y triterpenos.
3. El extracto hidroalcohólico presentó al 0,5% una media de halo de inhibición de $10,2067 \pm 0,041$ mm; al 1% presentó una media de inhibición de $12,3767 \pm 0,015$ mm y el extracto al 2% $16,2800 \pm 0,031$ mm, concluyendo que tiene buena actividad antimicótica.
4. El porcentaje de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de "amor seco" frente a *Cándida albicans*, comparado con los discos de sensibilidad de Terbinafina fué de 99,25%.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se debe seguir investigando el grado de toxicidad del *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco" a fin de esclarecer con exactitud la dosificación a recomendarse en humanos, sus indicaciones precisas, contraindicaciones y efectos secundarios.
2. Es necesario tener el reconocimiento exacto de su taxonomía de toda la especie a utilizar, y realizar un estudio comparativo con un fármaco del mismo grupo farmacoquímico.
3. Profundizar las determinaciones de principios activos, así como sus propiedades farmacológicas.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. **Abundio, S; Leiva, S.** 1993. Flora invasora de los cultivos del Perú. Editorial libertad. E.I.R.L. Trujillo – Perú.
2. **Acosta De La Luz, L; Hechevarría, I; Rodríguez, C; Milanés, M; Ramos, R.** 2010. Prácticas agrícolas para el cultivo de *Xanthium strumarium* L. (guizajo de caballo) con fines terapéuticos. Laboratorio Central de Farmacología, Facultad de ciencias Médicas. Ciudad de la Habana, Cuba.
3. **Arroyo, C.** 2002. Guía Moderna de Medicina Natural. Cuarta Edición. Lima– Perú.
4. **Bennet, J.** 1991. Agentes antimicóticos, capítulo 50 de Goodman y Gilman, Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8va. edición.
5. **Bruneton, J.** 1991. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. Editorial Acribia, S. A., Zaragoza - España.
6. **Cáceres, A.** 1996. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala. Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos de Guatemala.
7. **Cárdenas, V.** 2008. Guías de práctica de microbiología general. Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH – Perú. Pág. 64 – 70.
8. **Cowan, M.** 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical microbiology. Rev.12 (4): 564 – 582.
9. **Culven, C.** 1989. Métodos Farmacológicos en la Investigación de productos vegetales. 1° Ed. Editorial Jarmad-UNMSM Lima-Perú.Pg. 28.
10. **Crespo, V; Delgado, V.** 2005. Micosis cutáneas. Med Clin (Barc).125:467-474.
11. **Domínguez, X.** 1973. Métodos de investigación fitoquímica. Editorial Limusa. México.
12. **Evans, W; Trease, G.** 1991. Farmacognosia. Decimotercera Edición. Editorial Interamericana. México, D. F. México.
13. **Friedlander, SF.** 1999. The evolving role of itraconazole, fluconazole and terbinafine in the treatment of tinea capitis. Pediatr Infect DisJ 18: 205 - 210.

14. **Gutiérrez, M; Limachi, G; Gonzales, E; Bermejo, P.** 2011. Control de Calidad de *Xanthium spinosum*, Planta Medicinal expandido en la Ciudad de La Paz, Bolivia. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés Bolivia. Biofarvo, v.19 n. (1) ,15 - 21.
15. **Hinostroza, R.** 1997. Investigación fitoquímica del *Xanthium spinosum* L. "amor seco" y acción bioquímica sobre la *Artemia salina*. Tesis para optar el título de Biólogo. UNSCH. Ayacucho.
16. **Limaylla, A.**1985. Química de los Productos Naturales Tomo UNSCH- Ayacucho-Perú.
17. **Litter, M.** 1996. Farmacología. Editorial Ateneo. Buenos Aires – Argentina
18. **Lizcano, A; Vergara, J.** 2008. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. Pontificia Universidad Javierana. Bogotá D.C., Colombia.
19. **Lock de Ugaz, O.** 1994. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima.
20. **Martínez, A.** 2005. Flavonoides. Doctor en Ciencias, Facultad de Química Farmacéutica Universidad de Antioquia. Medellín, Septiembre.
21. **Miranda, M; Cuellar, A.** 2000. Manual de Practicas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana- Cuba.
22. **Montane, L.** 2012. ¿Para qué sirve el Fluconazol? Dosis, precio, efecto, indicaciones. Salud by Suite 101. Obtenida el 31 de Enero de 2012.
23. **Palomino, J.** 2000. Actividad antibacteriana de *Punica granatum* "granado" en cepas de *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*. Aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda. Ayacucho 2000. tesis. UNSCH.

24. **Rafael, C.** 2012. Plantas medicinales con actividad antiinfecciosa y antiparasitaria. Servicio de microbiología. Facultad de farmacia Universidad Complutense de Madrid.
25. **Rocabado, G.** 2004. Estudio sobre la actividad antiinflamatoria, ulcerogénica y gastroprotectora de las especies medicinales. *Rubus boliviensis* (KhariKhari), *Xanthium spinosum* (amor seco) y *Smilax asper* (Zarzaparrilla) mediante modelos experimentales en vivo. Universidad San Andrés Bolivia.
26. **Romero, M.** 2006. Evaluación de las plantas medicinales con propiedades antioxidantes en los distritos de Ayacucho, Carmen alto y Quinoa de la provincia de Huamanga. Instituto de investigaciones UNSCH.
27. **Vargas, R.** 2003. Efecto antimicótico del *Plumbago coeruleo*, "yana warmi" sobre hongos dermatofitos y *Candida albicans* – Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH.
28. **Triviño, L; Torres, JM; Martínez, A; Cortina, C; Belder, V; Pérez, M; Jansa, JM.** 2005. Prevalence of tinea capitis and tinea pedis in Barcelona school children. *Pediatr Infect Dis*; 24: 137 - 141.
29. **Wikipedia.** 2012. Terbinafina. Enciclopedia libre. Obtenida el 18 de Junio de 2012. de <http://es.wikiperdia.org/wiki/Terbinafina>.

ANEXOS

ANEXO N° 01

Certificado de identificación de la planta



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. Karina Del Carmen, VELAPATIÑO MIRANDA, 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	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Xanthium
ESPECIE	:	<i>Xanthium catharticum</i> H.B.K.
N.V.	:	"amor seco"

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

Ayacucho, 09 de Agosto del 2012

UNIVERSIDAD NACIONAL
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Dña. Lourdes Antonina Meléndez

ANEXO N° 02

Datos descriptivos de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* "amor seco" frente a *Cándida albicans*.
Ayacucho - 2012.

Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Terbinafina	6	16,270	,100	,041	16,165	16,375	16,140	16,420
Extracto 0,5%	3	10,207	,070	,041	10,032	10,381	10,140	10,280
Extracto 1,0%	3	12,377	,025	,015	12,314	12,439	12,350	12,400
Extracto 2,0%	3	16,280	,053	,031	16,149	16,411	16,220	16,320
Total	15	14,281	2,625	,678	12,827	15,734	10,140	16,420

ANEXO N° 03

Resultados del análisis de varianza de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólico de las hojas de *Xhanthium catharticum* "amor seco" frente a *Cándida albicans*. Ayacucho 2012.

Tratamiento	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F	Sig.
Entre grupos	96,405	3	32,135	5281,137	1,19 x 10 ⁻¹⁷
Dentro de grupos	,067	11	,006		
Total	96,472	14			

ANEXO N° 04

Resultados del análisis de varianza del porcentaje de inhibición de los extractos hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* "amor seco" frente a *Cándida albicans* en comparación con la Terbinafina. Ayacucho - 2012.

Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Extracto 0,5%	3	62,73	,43	,25	61,66	63,80	62,32	63,18
Extracto 1,0%	3	76,07	,15	,09	75,69	76,45	75,91	76,21
Extracto 2,0%	3	100,06	,33	,19	99,25	100,87	99,69	100,31
Total	9	79,62	16,38	5,46	67,03	92,21	62,32	100,31

ANEXO N° 05

Planta en estado silvestre del *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco".



ANEXO N° 06

Proceso de secado de la planta entera del *Xanthium catharticum*
H.B.K. "amor seco".



ANEXO N°07

Molienda de las hojas seleccionadas de *Xanthium catharticum* H.B.K.

“amor seco” en el Molino de cuchillas.



ANEXO N° 08

Método de percolación de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K.
"amor seco".



ANEXO N° 09

Proceso de percolación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco".



ANEXO N°10

Evaporación y concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco" en Baño María.



ANEXO N° 11

Secado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum*

H.B.K. “amor seco” en Baño María.



ANEXO N° 12

Identificación y reconocimiento de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. "amor seco".



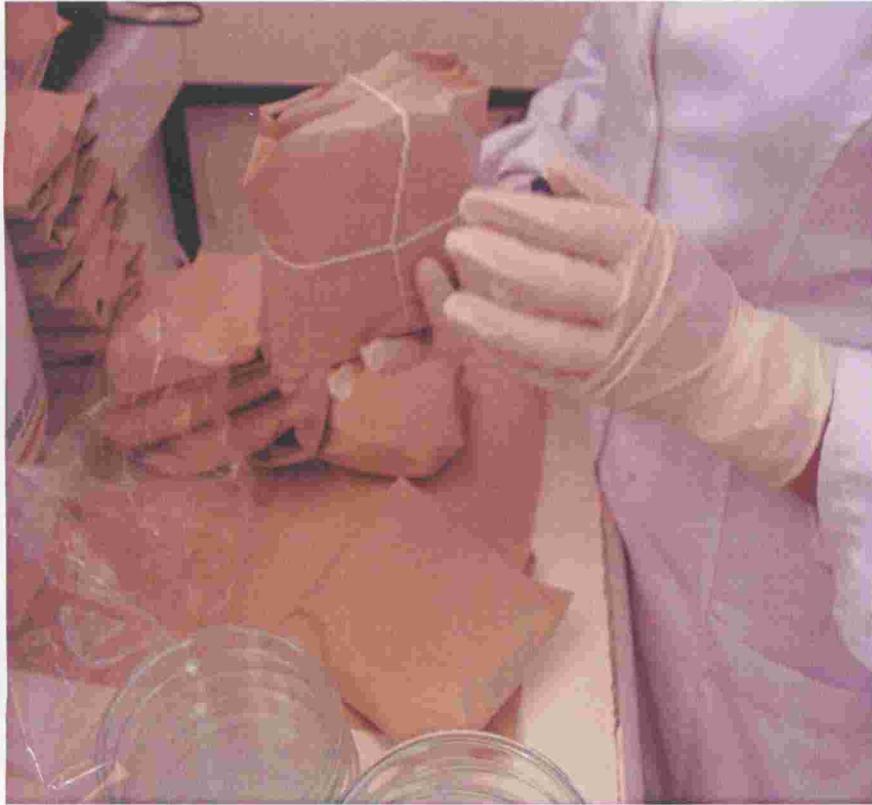
ANEXO N° 13

Reconocimiento de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* H.B.K. “amor seco”.



ANEXO N° 14

Preparación y empaquetamiento de las placas y demás materiales a utilizar para su esterilización en autoclave.



ANEXO N° 15

Preparación del Agar Mueller Hilton para el plaqueado de las placas de Petri y el sembrado de la muestra.



ANEXO N° 16

Sembrado del hongo *Cándida albicans* en placas con apoyo del mechero de Bunsen para evitar contaminación



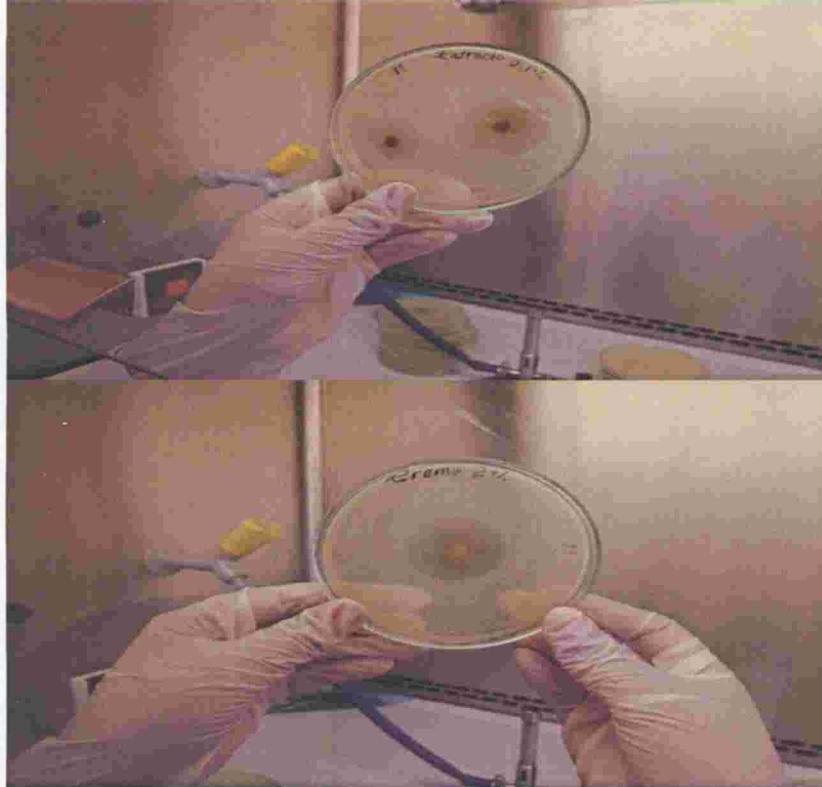
ANEXO N° 17

Incubación de las placas sembradas a 37 °C en óptimas condiciones.



ANEXO N° 18

Resultados de la prueba antimicótica de *Cándida albicans*



MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO: Actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Xanthium catharticum* H.B.K.

“amor seco” Ayacucho 2012.

PERSONAL INVESTIGADOR: Velapatiño Miranda Karina Del Carmen

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	VARIABLES	METODOLOGÍA
Actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco”, Ayacucho 2012.	¿Tendra actividad antimicótica el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco”?	<p>Objetivo General:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Evaluar la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco”. <p>Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Determinar los parámetros físico químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco”. - Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco”. - Determinar la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco”. - Determinar a qué concentración el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco” presentan mayor actividad antimicótica. 	<p>Antimicótico.</p> <p>El termino micosis se refiere a las infecciones causadas por hongos microscópicos, algunas micosis de hongos saprofitos que se encuentran en la piel y mucosas se vuelven patógenas cuando disminuye la resistencia del huésped o cuando existen condiciones locales o generales para su desarrollo.</p> <p><i>Xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco”</p> <p>planta poco estudiada en nuestro medio popularmente se emplea como diurético, sudorífico, antiinflamatorio, astringente, antiespasmódico, antiséptico, antipirético y antimicótico.</p>	<p>Variable dependiente:</p> <p>Actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco”.</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Formación de halos de inhibición <p>Variable independiente:</p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco”</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extracto hidroalcohólico al 0.5% • Extracto hidroalcohólico al 1% • Extracto hidroalcohólico al 2% 	<p>Tipo de Investigación: Explicativo. Diseño experimental.</p> <p>Población: Estará constituida por la especie <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K. “amor seco”, que crecen en la provincia de huamanga Región Ayacucho.</p> <p>Muestra: 5kg de las hojas secas del <i>Xanthium Catharticum</i> H.B.K “amor seco”</p> <p>Metodología:</p> <p>Se evaluará la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Xanthium catharticum</i> H.B.K “amor seco”. Para lo cual se cortará papel celulósico de 7mm de diámetro y 1mm de espesor. Los discos de papel serán esterilizados para luego ser embebidos en los diferentes extractos y enseguida puestos sobre los medios de cultivo, se dejará incubar para luego medir los halos formados alrededor de ellos.</p> <p>%Inhibición=Tratamiento-Blanco X100 Standar</p>

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D N° 468 – 2012 – FCB – D

Bach. KARINA DEL CARMEN VELAPATIÑO MIRANDA.

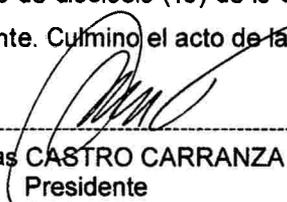
En la ciudad de Ayacucho, siendo las doce del mediodía Lunes diecisiete del dos mil doce, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, bajo la presencia del Doctor Tomás Castro Carranza en su condición de Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas y con la asistencia de los docentes miembros: Magister Edgar Cárdenas Landeo; Magister Víctor Cárdenas López; Magister Marco Rolando Aronés Jara (Asesor) y Magister Maricela López Sierralta, quien además actuara como secretaria docente, para recepcionar la tesis titulada: Actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catarticum* "amor seco". Ayacucho – 2012, presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Srta. KARINA DEL CARMEN VELAPATIÑO MIRANDA, quien pretende optar el título profesional de Químico farmacéutica.

El decano inició el acto de sustentación indicando a la expositora que cuenta para la disertación del trabajo de investigación con un tiempo no mayor de cuarenta y cinco minutos luego del cual los miembros del jurado calificador realizaran las observaciones, aclaraciones y preguntas que crean necesarias para la evaluación correspondiente, luego del cual el decano solicita, a la sustentante y al público en general que abandonen el auditorio dejando solo al jurado calificador, para que puedan deliberar y emitir su calificación como sigue:

JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	PREGUNTAS	PROMEDIO
Mg Edgar Cárdenas Landeo	16	16	16
Mg Víctor Cárdenas López	16	16	16
Mg Marco Rolando Aronés Jara	16	16	16
Mg Maricela López Sierralta	16	15	16

PROMEDIO TOTAL.16

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, el sustentante obtuvo la nota promedio de dieciséis (16) de lo cual dan fe los miembros del jurado, estampando su firma al pie de lo presente. Culmino el acto de la sustentación siendo las dos de la tarde.



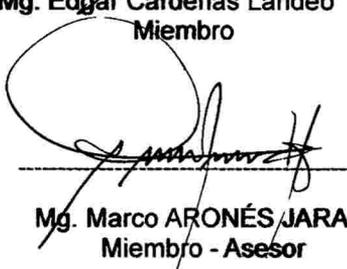
Dr. Tomas CASTRO CARRANZA
Presidente



Mg. Edgar Cárdenas Landeo
Miembro



Mg. Víctor Cárdenas López
Miembro



Mg. Marco ARONÉS JARA
Miembro - Asesor



Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA
Secretaria Docente - Miembro