



Ajoene, el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico

Eliades Ledezma¹ y Rafael Apitz-Castro²

^{1,2}Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Medicina, Universidad de Oriente (UDO), Núcleo Anzoátegui, Puerto la Cruz y ²Laboratorio de Trombosis Experimental. Centro de Biofísica y Bioquímica Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela

Resumen

Desde tiempos inmemoriales el ajo ha transitado junto al hombre por los caminos de la tierra, múltiples son los beneficios que la humanidad ha obtenido de sus propiedades medicinales y mágico-religiosas, pero fue en las últimas tres décadas cuando el estudio de sus propiedades permitió establecer una base racional para sus potencialidades clínicas. Se conoció la existencia de la alicina, el ajoene, los tiosulfinatos y una gama de compuestos organosulfurados como componentes esenciales de este bulbo y se comprobó, para muchos de ellos, una diversidad de efectos que abarcan desde propiedades antitrombóticas, antitumorales, antiparasitarias y antifúngicas. Sin embargo, el ajoene, un producto de gran estabilidad, que se origina de la ruptura y la reparación no enzimática de la alicina, y que puede también ser obtenido sintéticamente, demostró poseer la mayor actividad biológica en todos los sistemas estudiados. En este artículo nos referiremos a las propiedades antifúngicas del ajoene y a las potencialidades que posee esta novel molécula para ser utilizada en la terapéutica de las infecciones micóticas.

Palabras clave

Ajo, Ajoene, Antifúngico, Fungicida

Ajoene the main active compound of garlic (*Allium sativum*): a new antifungal agent

Summary

The curative properties of garlic in medicine have been known for a long time. But, it was only in the last three decades when garlic properties were seriously investigated confirming its potential as therapeutic agent. Allicin, ajoene, thiosulfinates and a wide range of other organosulphurate compounds, are known to be the constituents linked to the garlic properties. Regarding the biochemical properties of these compounds, ajoene [(E,Z)-4,5,9 Trithiadodeca 1,6,11 Triene 9-oxide] is stable in water, and it can be obtained by chemical synthesis. There is evidence that some of the garlic constituents exert a wide variety of effects on different biological systems. However, ajoene is the garlic compound related to more biological activities, as showed in *in vitro* and *in vivo* systems. Those studies found that ajoene has antithrombotic, anti-tumoral, antifungal, and antiparasitic effects. This study deals with a recently described antifungal property of ajoene, and its potential use in clinical trails to treat several fungal infections.

Key words

Ajoene, Garlic, Antifungal, Fungicidal

Dirección para correspondencia

Dr. Eliades Ledezma
Departamento de Ciencias Fisiológicas
Escuela de Medicina
Universidad de Oriente (UDO)
Núcleo Anzoátegui
Puerto la Cruz, Venezuela
Tel.: +58 281 265 9659
Fax: +58 281 265 9659
E-mail: eliadesl@yahoo.es

Historia

El género *Allium* contiene más de 300 especies de plantas; entre ellas se encuentra el *Allium sativum*, un bulbo perteneciente a la familia de las liliáceas, cuyas características olorosas permitieron su denominación con el uso del término *allium*, que significa oloroso en latín, y de donde provienen tanto el vocablo español ajo, como el francés *aïl*. La denominación inglesa *garlic* se origina del escandinavo antiguo, mediante la combinación de las palabras *gar* y *leac* que significan lanza y hierba, en una clara alusión a una planta con hojas en forma de lanza, en alemán es *knoblauch*, en árabe *tum*, en indio *lashunal* y en chino *da suan*. Desde épocas remotas esta planta ha coexistido como una parte fundamental de la cultura humana, siendo utilizado por diversas civilizaciones en la elaboración de alimentos, en múltiples preparaciones medicinales y en variadas pociones y ritos mágicos religiosos.

El origen del ajo se remonta a las regiones de Asia Central, a los territorios de Rusia, en el desierto siberiano de Kirghiz, y desde allí, junto a los pueblos nómadas, el apreciado bulbo migra progresivamente a Arabia, a Egipto, a la India, a China y al Mediterráneo, a través de las diferentes rutas comerciales y las campañas militares de conquista que tuvieron lugar a lo largo de la historia. Sin embargo, se cree que el ajo es conocido por el hombre desde el comienzo mismo de la humanidad. En las creencias mahometanas, cuando Satán triunfante abandona el Edén, brotaron cebollas de su huella derecha y ajos de la izquierda. Para los egipcios, la cabeza del ajo representaba el cosmos, sus pieles, las diferentes etapas del cielo y el infierno y la disposición de los dientes, el sistema solar. Por lo tanto, su consumo representaba la unión del hombre y el universo y era un nutriente no sólo del cuerpo sino también del espíritu. Para los tibetanos, los dioses del cielo tuvieron una lucha y el dios perverso fue muerto por los tres dioses buenos. Su cuerpo se precipitó en la tierra en mil pedazos y de cada uno de ellos brotó un ajo.

En tiempos de Horacio, las clases altas romanas desaprobaban el ajo, que era consumido masivamente por el pueblo. Los comerciantes fenicios y los navegantes vikingos se acompañaban con él, para fortalecerse en sus viajes y prevenir enfermedades. Los esclavos que trabajaban en la construcción de las pirámides egipcias ya conocían las propiedades benéficas del ajo y recibían una ración del mismo durante las extenuantes y agotadoras jornadas de trabajo a que eran sometidos. En Grecia, los atletas olímpicos recibían una dotación de ajo antes de la competencia. Aristóteles relataba en sus obras que los atletas comían ajo para sostener sus esfuerzos en las arduas competencias olímpicas y Virgilio refrendaba esto, afirmando que el ajo era óptimo para vigorizar a los agricultores. En la China antigua y en Japón era recomendada su utilización por los ancianos para prevenir eventos trombóticos. Ya para esa época, el ajo era conocido como un excelente tónico para combatir la hipertensión arterial, los tumores y los parásitos [34]. En el Talmud se afirma con entusiasmo que: "Satisface, templó el cuerpo, ilumina el rostro, incrementa el líquido seminal, y elimina las lombrices intestinales. Algunos afirman que incita al amor y disipa la enemistad... por el sentimiento de bienestar que engendra." Ya a comienzos del siglo XX se habían demostrado racionalmente las propiedades antibacterianas del ajo y con este propósito fue utilizado por el ejército ruso durante la segunda guerra mundial.

El ajo es hoy parte integrante de la cultura de la humanidad y su simbolismo alcanza dimensiones francamente revolucionarias como las reflejadas en la revista *Ajoblanco* nacida en 1974 en Barcelona (España) «con

inquietud y por necesidad» para estimular «las nuevas inquietudes que fecundaron estas tierras tras el mayo francés, la contracultura norteamericana, el *underground* progresivo y el renacido movimiento libertario...». Y ahora, en su nueva edición con el nombre *el Ajo*, intenta dar a sus lectores un remedio para quitarse el mal sabor de la boca que produce la mentira que nos rodea por todas partes. Contra el sabor a mentira, *el Ajo*.

Hoy día, la reproducción de esta planta es totalmente dependiente del cultivo humano: las semillas de ajo doméstico son estériles y sólo se puede propagar en forma vegetativa mediante la siembra de los dientes que conforman el bulbo.

Las leyendas y el simbolismo en el folklore del ajo, como ya hemos mencionado anteriormente, son numerosas y variadas, a menudo ricas en hechos y fantasías [28]. Ello ha generado que esta planta sea una de las más populares en el mundo y se encuentre prácticamente hoy en todos nuestros hogares, tanto en forma natural como en diversas formulaciones y extractos.

La abrumadora reputación que el ajo posee como un agente terapéutico efectivo en el tratamiento de diversas enfermedades indujo a que numerosos investigadores se dedicaran al estudio de sus propiedades; algunas de ellas han sido descartadas y otras han encontrado sólidas bases moleculares [28] que están asociadas a los diversos compuestos organosulfurados que lo constituyen.

Alicina y Ajoene

Aunque el interés científico por los componentes del ajo se remonta a 1844 con los trabajos de Werthein que condujeron a la identificación del disulfuro de alilo como responsable de su olor característico, no es sino hasta 1945 cuando Cavallito [11] describe la generación de la alicina mediante la acción de la enzima aliinasa. Posteriormente, en 1983, Apitz-Castro en Caracas (Venezuela) [2] reporta el descubrimiento de una nueva molécula en extractos alcohólicos del ajo poseedora de una potente actividad antiplaquetaria [3-5,8]. Posteriormente, esta molécula sería sintetizada en 1986 y se conocería con el nombre de ajoene [9], una palabra compuesta que relaciona el origen de la molécula, es decir, el nombre popular de la planta 'ajo', en castellano, con la terminación 'ene' indicativa de la presencia de dobles enlaces [28] (algunos autores de habla hispana lo traducen a 'ajoeno'). En la actualidad se conocen más de 100 compuestos biológicamente activos derivados del ajo. Sin embargo, la aliina es el compuesto organosulfurado que se encuentra en mayor proporción y constituye el substrato principal para la enzima aliinasa que, una vez liberada de su compartimiento intracelular por daño o lisis celular, lo transforma en el tiosulfonato alicina, una sustancia inestable, incolora y ópticamente activa ($[\alpha]_D^{25} = -3,9^\circ$) que le confiere el olor característico al ajo y a la cual se le han descrito múltiples actividades biológicas. La inestabilidad química de la alicina ha conducido a que la Advertising Standards Authority estableciera, en 1995, la siguiente regla de calidad para los distintos productos manufacturados del ajo que son comercializados con fines medicinales:

"It is sulphides and not allicin which is the active ingredient of garlic"

La alicina se descompone rápidamente y produce dióxido de azufre, alcohol alílico, trisulfuro de dimetilo, mono di- y tri-sulfuro de dialilo y di- y tri-sulfuro de metilalilo. En presencia de un medio alcohólico se encuentra el di-, tri-, y tetra-sulfuro de dialilo, así como también el

trisulfuro de metilalilo, los derivados cíclicos 2-vinil-2,4-dihidro-1,3-ditíña y 3-vinil-3,4-dihidro-1,2-ditíña y los dos isómeros geométricos del 4,5,9 tritriadodeca-1,6,11 triene 9-óxido o ajoene [10] que se forman a partir de tres moléculas de alicina y cuya actividad biológica inicial fue demostrada en plaquetas humanas [2,6] pero que, posteriormente, ha sido ampliada a otros sistemas biológicos.

Los estudios mecanísticos para la síntesis orgánica del compuesto ajoene permitieron proponer una ruta de eliminación de Cope, a partir de la alicina, para originar el ácido 2-propenil sulfénico y la tioacroleína. El propenil sulfénico inicia una serie de reacciones de condensación con alicina para originar el disulfuro de alilo que, en unión con el propenil sulfénico, origina el compuesto ajoene en sus dos formas isoméricas [9,10].

Diversas son las propiedades medicinales de los componentes del ajo que le han sido certificadas científicamente durante las últimas décadas, siendo numerosos los artículos que relacionan el consumo de las especies de *Allium* bien sea con la prevención o con el tratamiento de diversos tipos de cáncer [16] y con sus potencialidades antifúngicas. Nosotros nos referiremos en este artículo particularmente a las propiedades antifúngicas del ajoene como el principal compuesto bioactivo derivado del ajo.

Propiedades antifúngicas

El interés de la Ciencia por la capacidad antifúngica del ajo se remonta al siglo pasado. Timonin y Thexton (1951) observaron que extractos acuosos del ajo prevenían el crecimiento de hongos provenientes de una muestra de suelo [43]. Fliermans (1973) demuestra que el crecimiento miceliar de *Histoplasma capsulatum* es también afectado por estos extractos [17]. Tansey (1975) comprueba que los extractos acuosos de ajo pueden inhibir el crecimiento de diversas especies de hongos con interés biomédico, industrial y agrícola [44]. Las preparaciones de ajo, y especialmente la alicina [47], resultaron biológicamente activas contra diversas especies de levaduras, hongos dermatofitos y dimorfos. Este efecto estaba asociado a la inhibición de la biosíntesis de novo de los lípidos polares o fosfolípidos que ocasionaban un incremento en la proporción de fosfatidiletanolamina y una disminución de fosfatidilcolina [1,19].

Aunque diversos autores demostraron la actividad antifúngica del compuesto ajoene en diversos modelos micóticos in vitro [35-38,45,48], no fue sino hasta 1996 cuando nosotros demostramos su seguridad y eficacia en la terapia de corta duración de la *tinea pedis* [23]: siete días continuos de tratamiento fueron suficientes para alcanzar la cura clínica y micológica en el 79% de los pacientes sin que se presentara recurrencia a los 90 días post tratamiento. Hasta entonces, sólo la molécula de terbinafina administrada en esquemas terapéuticos de corta duración (7-15 días) había sido capaz de mostrar una efectividad en el tratamiento tópico de la *tinea pedis*. Todos los demás agentes terapéuticos utilizados para el tratamiento de esta enfermedad requieren de regímenes más prolongados, indicando muy probablemente que la potencia antifúngica expresada por terbinafina y ajoene in vivo resulta mucho mayor que la expresada por las otras drogas antifúngicas [14,20-22]. Sin embargo, las características de ese trabajo lo revelan como un estudio abierto no controlado por placebo, con las limitaciones que le son inherentes y que no permiten obtener mayores conclusiones a las evidencias que, acerca de la seguridad en el uso tópico del compuesto, fueron observadas. Por ello fue necesario la reali-



Figura 1. Molécula de *cis*-(z)-ajoene.

zación de una serie de nuevos estudios en diversos tipos de infecciones micóticas superficiales como lo son *tinea pedis*, *tinea cruris*, *tinea corporis*, *tinea capitis* y onicomicosis [24,25,29,30].

En patologías como *tinea pedis*, *tinea corporis* y *tinea cruris* generalmente el resultado de una terapia tópica es una rápida desaparición de los síntomas clínicos, lo que origina un alivio en los pacientes que asocian con la curación de la enfermedad y descontinúan la terapia antes de su finalización. Como la mayoría de los antimicóticos requieren de al menos cuatro semanas de tratamiento dos veces diarias [31], lo prolongado de esta aplicación conduce por lo general a ser rechazada por el paciente, que no alcanza la curación clínica debido al abandono del tratamiento, complicándose posteriormente y transformándose en un paciente crónico. Además, los pacientes tratados con estos antimicóticos que sí son capaces de continuar disciplinadamente el régimen de tratamiento presentan una alta tasa de recurrencia que muchos autores señalan de hasta un 30% [7,46]. Cuando los pacientes son tratados con ajoene durante una semana la tasa de recurrencia resulta extremadamente baja [24,25].

La recurrencia o recaída en la enfermedad debe diferenciarse claramente de la reinfección, ya que la primera es debida muy probablemente a un fallo del tratamiento en erradicar la infección micótica y, como resultado, una parte importante de la población de hongos sobreviven en la piel infectada y regresan a los 30 ó 60 días postratamiento. Este regreso se ha intentado explicar a partir de los distintos mecanismos de acción de cada droga en particular, clasificándolos en fungistáticos y fungicidas, lo que a su vez está relacionado con la potencia antifúngica y la efectividad en el tratamiento. Sin embargo, durante la década pasada se han desarrollado varios agentes antifúngicos con una extremada potencia contra los dermatofitos, a saber: el laconazol (un imidazol), la butenafina (una benzilamina), la amorolfina (una morfina) y la terbinafina (una alilamina) y aún permanecen las elevadas tasas de recaídas. Ello ha conllevado a enfocar el problema, no solamente desde el punto de vista de la potencia de la droga, sino también desde el punto de vista de la biodisponibilidad de la misma que, en definitiva, es lo que va a garantizar su permanente contacto con el hongo. Incluso se ha reportado que algunos de estos agentes antifúngicos presentan afinidad por la queratina de la piel, lo que resulta bajo ciertos términos beneficioso, porque la droga tendería a estar asociada a la piel muy próxima al agente patógeno. Sin embargo, la alta afinidad de la droga por la queratina hace que la misma se distri-

buya en menor proporción en la capa córnea de la epidermis que es, en realidad, donde el hongo sobrevive [40]. Por eso, la eficacia terapéutica de un agente antimicótico va a estar relacionada con su potencia y su biodisponibilidad en la capa córnea. Este hecho permite explicar por qué, para muchas drogas, no existe una correlación entre su potencia antifúngica y su efectividad en el tratamiento; no sólo es necesario que se alcancen elevados niveles de la droga en la piel, sino que, además, es necesario que la misma sea retenida largo tiempo en su forma activa en la capa córnea [41]. Por esta razón, los altos niveles de efectividad parecen estar asociados a compuestos antifúngicos que presentan niveles intermedios de afinidad por la queratina y por consiguiente presentan tiempos de retención que le permiten a la piel ir liberando la droga progresivamente en la capa córnea [42].

La molécula de terbinafina es altamente lipófila y puede penetrar rápidamente las capas superiores del estrato córneo y los segmentos profundos de los folículos pilosos [37]. Sin embargo, cuando es utilizada tópicamente sólo el 5% de la droga logra alcanzar la circulación sistémica, lo que indica probablemente la existencia de una elevada tasa de retención en la piel.

Aunque el ajoene ha sido evaluado en diversos sistemas experimentales in vivo [3,5,26,27,32] que han permitido conocer algunos datos de la farmacodinamia de este novel compuesto, no ha sido realizado ningún estudio de su farmacocinética. Su naturaleza predominantemente lipófila nos hace suponer que, al igual que la terbinafina, debe alcanzar rápidamente las capas superiores del estrato córneo y penetrar fácilmente en la piel. La tasa extremadamente baja de recarga observada en los pacientes tratados con ajoene puede ser un indicativo de que la molécula conjuga con su elevada potencia como antifúngico una buena biodisponibilidad en la piel. Ello puede explicar los resultados obtenidos en el tratamiento de las cromomycosis [33] y en las onicomycosis causadas por levaduras [29], en ambos sistemas, ajoene ha mostrado enormes potencialidades de uso como agente terapéutico.

Las pequeñas dermatofitosis pueden ser resueltas fácilmente con cualquier tratamiento tópico; sin embargo, las infecciones severas o crónicas o de características múltiples (dermatofitosis complejas) donde estén presentes bacterias y un cuadro inflamatorio, pueden requerir de terapias que eliminen el hongo y la bacteria y reduzcan rápidamente el cuadro inflamatorio. Algunas monoterapias pueden exhibir actividad antimicótica y antibacteriana; en otras formulaciones se pueden combinar drogas para obtener un producto con ambas propiedades. Si la inflamación está presente, probablemente se requiera de la utilización de una droga con comprobada actividad antiinflamatoria [20]. El ajoene es uno de los dos agentes antifúngicos que poseen actividad antiinflamatoria y antibacteriana comprobada; el otro es ciclopirox, una hidroxipiridona de amplio espectro fungistático.

La significativa actividad antiinflamatoria que presenta la molécula de ajoene [12] es una propiedad que resulta clínicamente importante, mientras que la terbinafina, a diferencia de su precursor la naftifina, no posee ninguna actividad antiinflamatoria y permite, en los pacientes tratados con ajoene, una rápida disminución de los signos y síntomas y una tasa de recurrencia extremadamente baja.

Mecanismo de acción

La actividad antiproliferativa del ajoene parece estar asociada a múltiples mecanismos como:

1. La inhibición de la biosíntesis de fosfatidilcolina [1,36,47].
2. La generación de un desorden de empaquetamiento de los fosfolípidos en la membrana, que ocurre sin afectar la estructura principal del mosaico, aumentando la fluidez de las cadenas hidrocarbonadas, sin modificar la superficie hidrófila de la bicapa [13].
3. La inhibición de la enzima glutatión reductasa, una enzima primordial en la regulación de la carga oxidativa que se genera durante el metabolismo celular y cuya inhibición conlleva un desequilibrio que incrementa la aparición de radicales libres y conduce a la muerte celular [18].
4. El ajoene reacciona con los grupos sulfhidrilo de los residuos de cisteína en las proteínas de membrana que constituyen dominios relacionados con funciones de adhesión en la interacción parásito-hospedador, patogenicidad, receptores celulares de superficie, transductores de señalización celular, etc. [15].

Cuando se compara la potencia antifúngica del ajoene con la del fluconazol y la de la terbinafina [29,30] se observan diferencias que pueden ser explicadas considerando los mecanismos moleculares expuestos. Tanto el fluconazol como la terbinafina son inhibidores de la síntesis de ergosterol. El fluconazol, un inhibidor específico de la α -14 demetilasa, presenta sólo un blanco celular, por lo que las concentraciones requeridas para que la droga ejerza su efecto están asociadas a las concentraciones existentes de la enzima en el interior celular. Por su parte, la terbinafina, cuyo mecanismo molecular para la inhibición de la enzima escualeno epoxidasa no está claramente definido y que parece actuar de manera inespecífica desorganizando los dominios que son requeridos por la enzima, requiere mayor concentración para poder acceder al sitio de enlazamiento lipídico y ejercer su acción regulatoria. El ajoene, por presentar múltiples blancos celulares, requiere una mayor cantidad de moléculas para poder interactuar con cada uno de ellos de manera eficaz. Por lo anteriormente expuesto, el fluconazol es el más lento en expresar su actividad: los esteroides pueden ir desapareciendo de la bicapa lipídica a través de varias generaciones sin afectar significativamente a su estructura y sólo cuando disminuyen en un 90% comienzan a presentarse alteraciones morfológicas, pérdida del control osmótico, alteraciones en la permeabilidad, etc., reflejándose todos estos efectos en el comienzo de la actividad antiproliferativa. Por su parte, la terbinafina, al generar la acumulación del escualeno, produce un compuesto altamente tóxico que conduce a la muerte celular, por lo que su actividad se manifiesta más rápidamente. El ajoene, agente con múltiples sitios de acción, genera una enorme presión en el organismo para mantener su funcionalidad; aunado a ello, la inhibición de la biosíntesis de fosfatidilcolina conduce en forma inmediata a una acumulación de fosfatidiletanolamina como agente precursor que no favorece la formación de nuevas membranas celulares. Estos efectos drásticos en la formación de la bicapa lipídica comprometen seriamente el desarrollo de nuevas generaciones y el efecto se manifiesta tempranamente en la proliferación del hongo.

Conclusiones

El ajoene constituye un agente terapéutico que permite el tratamiento tópico de las infecciones fúngicas en la piel mediante un régimen de corta duración, con una elevada eficacia y una tasa de recurrencia extremadamente baja, que resulta muy ventajoso para el paciente, porque disminuye considerablemente los riesgos de toxicidad sistémica, donde los efectos adversos pueden afectar a diversos sistemas del organismo (gastrointestinal, nervioso, cutáneo, hepático, etc.).

Estas características hacen de este compuesto uno de los fungicidas más importantes existentes en la actualidad y abre nuevas fronteras en la búsqueda de tratamientos más seguros y efectivos en la terapéutica de las enfermedades micóticas, cuyas tasas de incidencia las colocan como un problema de salud pública en todo el mundo, con

un incremento creciente en las poblaciones más pobres, en los ancianos, en las personas inmunosuprimidas, en las receptoras de trasplantes y por la aparición de nuevos agentes etiológicos que eran considerados tradicionalmente como no patógenos.

Al Profesor Mahendra K Jain, Department of Chemistry and Biochemistry, University of Delaware, Newark, DE, (EE.UU.), por el continuo apoyo tanto material como intelectual al desarrollo de los estudios descritos.

Bibliografía

Bibliografía

1. Adetumbi M, Javor GT, Lau BHS. *Allium sativum* (Garlic) inhibits lipid synthesis by *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30: 499-501.
2. Apitz-Castro R, Cabrera S, Cruz MR, Ledezma E, Jain MK. Effects of garlic extract and three pure components isolated from it on human platelet aggregation, arachidonate metabolism, release reaction and platelet ultrastructure. *Thromb Res* 1983; 32: 155-169.
3. Apitz-Castro R, Ledezma E, Jain MK, Block E. (E-Z) Ajoene, The major antiaggregatory compound derived from garlic, specifically inhibits the release reaction and fibrinogen binding. *Thromb Haemostas* 1985; 54: 182.
4. Apitz-Castro R, Ledezma E, Escalante J, Jain MK. The molecular basis of the antiplatelet action of ajoene: Direct interaction with the fibrinogen receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; 141: 45-150.
5. Apitz-Castro R, Ledezma E, Escalante J, Jorquera A, Piñate FM, Moreno-Rea J, Carrillo G, Leal O, Jain MK. Reversible prevention of platelet activation by (E,Z)-4,5,9-trithiadodeca-1,6,11-triene 9-oxide (Ajoene) in dogs under extracorporeal circulation. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1988; 38: 901-904.
6. Apitz-Castro R, Jain MK, Bartoli F, Ledezma E, Ruiz MC, Salas R. Evidence for direct coupling of primary agonist-receptor interaction to the exposure of functional IIb-IIIa complexes in human blood platelets. Results from studies with the antiplatelet compound ajoene. *Biochem Biophys Acta* 1991; 1094: 269-280.
7. Bergstresser PR, Elewski B, Hanifin J, Leshner J, Savin R, Shupack J, Stiller M, Tschen E, Zaias N, Birnbaum JE. Topical terbinafine and clotrimazole in interdigital tinea pedis: a multicenter comparison of cure and relapse rates with 1- and 4-week treatment regimens. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 648-651.
8. Block E, Ahmad S, Jain MK, Crecely RW, Apitz-Castro R, Cruz MR. (E-Z) Ajoene: a potent antitrombotic agent from garlic. *J Am Chem Soc* 1984; 106: 8295-8296.
9. Block E, Ahmad S, Catafalmo J, Jain M, Apitz-Castro R. Antitrombotic organosulfur compounds from garlic: structural, mechanistic and synthetic studies. *J Am Chem Soc* 1986; 108: 7045-7055.
10. Block E. The organosulfur chemistry of the genus *allium*-implications for the organic chemistry of sulfur. *Angew Chem Int Ed Engl* 1992; 3: 1135-1178.
11. Cavallito CJ, Bailey JHA, Allicin the antibacterial principle of *Allium sativum*. I Isolation physical properties and antibacterial action. *J Am Chem Soc* 1944; 66: 1950-1951.
12. Dirsch VM, Vollmar AM. Ajoene, a natural product with non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-like properties? *Biochem Pharmacol* 2001; 61: 587-593.
13. Debouzy JC, Neumann JM, Herve M, Daveloose D, Viret J, Apitz-Castro R. Interaction of antiaggregatory molecule ajoene with membranes. An ESR and ¹H, ²H, ³¹P NMR study. *Eur Biophys J* 1989; 17: 211-216.
14. Evans E, Seaman R, James I. Short-duration therapy with terbinafine 1% cream in dermatophyte skin infections. *Br J Dermatol* 1994; 130: 83-87.
15. Ferri N, Yokoyama K, Sadilek M, Paoletti R, Apitz-castro R, Gelb M, Corsini A. Ajoene, a garlic compound, inhibits protein prenylation and arterial smooth muscle cell proliferation. *British J Pharmacol* 2003; 138: 811-818.
16. Fleischauer AT, Arab L. Garlic and cancer: a critical review of the literature. *J Nutr* 2001; 131 (Suppl. 3): S1032-S1040.
17. Fliermans CB. Inhibition of *Histoplasma capsulatum* by garlic. *Mycopathol Mycol Appl* 1973; 50: 227-231.
18. Gallwitz H, Bonse S, Martinez-Cruz A, Schlichting I, Schumacher K, Krauth-Siegel RL. Ajoene is an inhibitor and subsversive substrate of human glutathione reductase and *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase: crystallographic, kinetic, and spectroscopic studies. *J Med Chem* 1999; 42: 364-372.
19. Ghannoum MA. Studies on the anticandidal mode of action of *Allium sativum* (Garlic). *J Gen Microbiol* 1988; 134: 2917-2924.
20. Gupta AK, Kohli Y. *In vitro* susceptibility testing of ciclopirox, terbinafine, ketoconazole and itraconazole against dermatophytes and nondermatophytes, and *in vitro* evaluation of combination antifungal activity. *Br J Dermatol* 2003; 149: 296-305.
21. Gupta AK, Chow M, Daniel CR, Aly R. Treatments of tinea pedis. *Dermatol Clin* 2003; 21: 431-462.
22. Gupta AK, Skinner AR, Cooper EA. Interdigital tinea pedis (dermatophytosis simplex and complex) and treatment with ciclopirox 0.77% gel. *Int J Dermatol* 2003; 42 (Suppl. 1): S23-S27.
23. Ledezma E, De Sousa L, Jorquera A, Sanchez J, Lander A, Rodriguez E, Apitz-Castro R, Jain MK. Effectiveness of ajoene, an organosulfur derivative from garlic in the short-term therapy of tinea pedis in humans. *Mycoses* 1996; 39: 393-395.
24. Ledezma E, López JC, Marin P, Romero H, Ferrara G, De Sousa L, Jorquera A, Apitz-Castro R. Ajoene in the topical, short-term, treatment of tinea cruris y tinea corporis in humans. Random comparative study with terbinafine. *Drug Res* 1999; 49: 544-547.
25. Ledezma E, Marcano K, Jorquera A, De Sousa L, Padilla M, Pulgar M, Apitz-Castro R. Efficacy of ajoene in the treatment of *Tinea pedis*: a double-blind and comparative study with terbinafine. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43: 829-832.
26. Ledezma E, De Sousa L, Jorquera A, Sanchez J, Lander A, Rodríguez E, Apitz-Castro R, Jain MK. Efecto del ajoene tópico, un trisulfuro orgánico derivado del ajo en el cancer de piel no melanómico. *Acta Cientif Venez* 1996; 47 (Supl. 1): S137.
27. Ledezma E, Apitz-Castro R, Cardier J. Apoptotic and anti-adhesion effect of ajoene, a garlic derived compound, on the murine melanoma B16F10 cells: possible role of caspase-3 and the $\alpha_4\beta_1$ integrin. *Cancer Lett* 2004; 206: 35-41.
28. Ledezma E, Apitz-Castro R. Del folklore al mecanismo molecular. El ejemplo del ajoene. *Interciencia* 1998; 23: 227-231.
29. Lemus D, Maniscalchi MT, Ledezma E, Vivas J, Sanchez J, Apitz-Castro R. Susceptibilidad *in vitro* al ajoene de aislados de *Candida albicans*, *C. parapsilopsis* y *C. krusei* obtenidos de pacientes con onicomicosis y su relación con el tratamiento tópico. *Rev Soc Venez Microbiol* 2004; 24: 34-39.

30. Maniscalchi MT, Lemus D, Ledezma E, Sanchez J, Vivas J, Apitz-Castro R. Estudio de la susceptibilidad *in vitro* de aislados de *Microsporium canis* al ajoene, terbinafina y griseofulvina, utilizando el método de microdilución. Rev Soc Venez Microbiol 2004; 24: 40-45.
31. Pereda J, Noguera X, Boncompte E, Alguero M, Izquierdo I. Efficacy of flutrimazole 1% powder in the treatment of tinea pedis. Mycoses 2003; 46: 126-131.
32. Perez H, De La Rosa M, Apitz-Castro R. In vivo activity of Ajoene against rodent Malaria. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38: 337-339.
33. Perez-Blanco M, Valles RH, Zeppenfeldt GF, Apitz-Castro R. Ajoene and 5-fluorouracil in the topical treatment of *Cladophialophora carrionii* chromoblastomycosis in humans: a comparative open study. Med Mycol 2003; 41: 517-520.
34. Riulin RS. Historical perspective on the use of garlic. J Nutr 2001; 131 (Suppl. 3): S951-S954.
35. Romero H, Vivas J, Chalbaud V, Ledezma E, Apitz-Castro R. *In vitro* antiproliferative effect of ajoene on *Microsporium canis*. J Mycol Med 2000; 10: 152-155.
36. San-Blas G, San-Blas F, Gil F, Mariño L, Apitz-Castro R. Inhibition of growth of the dimorphic fungus *Paracoccidioides brasiliensis* by ajoene. Antimicrob Agents Chemother 1989; 33: 1641-1644.
37. Sánchez-Mirt A, Gil F, Apitz-Castro R. Efecto inhibitorio y alteraciones ultraestructurales producidas por ajoene sobre el crecimiento *in vitro* de los hongos dematiáceos: *Cladosporium carrionii* y *Fonsecaea pedrosoi*. Rev Iberoam Micol 1993; 10: 74-78.
38. Sánchez-Mirt A, Gil F, Apitz-Castro R. Actividad *in vitro* e *in vivo* del ajoene sobre *Coccidioides immitis*. Rev Iber Micol 1994; 11: 99-104.
39. Stiller MJ, Shupack JL, Rosenthal SA. Treatment of dermatophytoses II: Newer topical antifungal drugs. Int J Dermatol 1993; 32: 638-641.
40. Tauber U. Pharmacokinetics of antimycotics with emphasis on local treatment Ann N Y Acad Sci 1988; 544: 14-26.
41. Tatsumi Y, Yokoo M, Arika T, Yamaguchi H. In vivo fungicidal effect of KP-103 in a guinea pig model of interdigital tinea pedis determined by using a new method for removing the antimycotic carryover effect. Microbiol Immunol 2002; 46: 433-439.
42. Tatsumi Y, Yokoo M, Senda H, Kakehi K. Therapeutic efficacy of topically applied KP-103 against experimental tinea unguium in guinea pigs in comparison with amorolfine and terbinafina. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 3797-3801.
43. Timonin MI, Thexton RH. The rhizosphere effect of onion and garlic on soil microflora. Soil Sci Soc Amer Proc 1951; 15: 186-189.
44. Tansey MR, Appleton J. Inhibition of fungal growth by garlic extract. Mycologia 1975; 67: 409-413.
45. Vivas J, Romero H, Herrmann G, Ledezma E, Apitz-Castro R. *In vitro* antiproliferative effect of Ajoene on *Cryptococcus neoformans*. J Mycol Med 2002; 12: 149-151.
46. Watanabe S. Present state and future direction of topical antifungals. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi 1999; 40: 151-155.
47. Yamada Y, Azuma K. Evaluation of the *in vitro* antifungal activity of allicin. Antimicrob Agents Chemother 1977; 11: 743-749.
48. Yoshida S, Kasuga S, Hayashi N, Ushiroguchi T, Matsuura H, Nakagawa S. Antifungal activity of ajoene derived from garlic. Appl Environ Microbiol 1987; 53: 615-617.