

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**

*Nuevos Tiempos. Nuevas Ideas*



**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

**“ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Lomanthus truxillensis* Cabrera EN CEPAS DE *Candida albicans* ATCC 10231 Y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *IN VITRO*”**

**Tesis para optar el Título Profesional de  
QUÍMICO FARMACÉUTICO Y BIOQUÍMICO**

**TESISTAS:**

**Bachiller ANSELMO RAMOS, Roxana**

**Bachiller FLORES HUERTAS, Raquel Elizabeth**

**ASESOR:**

**QF. HÉCTOR VÍLCHEZ CACEDA**

**LIMA-PERÚ  
2018**

## DEDICATORIA

A Dios por darme vida para poder realizar esta investigación que día a día me brinda la fuerza para que pueda seguir adelante y alcanzar las metas propuestas.

A mis padres y mi hermana por depositar su confianza en mí, por sus palabras de aliento que no me dejaban retroceder sino seguir para adelante, por su apoyo incondicional que siempre me brindan.

A mis amigas y amigos que siempre me dan ánimos para continuar, es el mejor regalo que me pudo haber dado la vida.

*Roxana*

A Dios por ser el pilar fundamental de mi vida y darme la fortaleza para cumplir cada meta con la constancia y perseverancia.

A mis padres por su gran amor, comprensión y apoyo constante. La enseñanza de no desfallecer en el intento, por inculcarme buenos valores y brindarme sus sabios consejos para lograr cada uno de mis objetivos.

A mis queridas hermanas y amigos por su colaboración, compañía, las buenas experiencias a lo largo de este periodo y por el aliento que me han dado para seguir adelante.

*Raquel*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios y a nuestros padres por su amor gran amor infinitos, siendo son los pilares más importantes de nuestras vidas. Por haber puesto en el camino aquellas personas quienes nos brindaron el apoyo fundamental y fueron de soporte durante el desarrollo de nuestra tesis.

A nuestra alma máter “Universidad Inca Garcilaso de la Vega”, por habernos abierto las puertas en esta casa de estudios. Así mismo, a los docentes de nuestra facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica por su apoyo al brindarnos sus sabios conocimientos y enseñanza durante nuestra formación profesional.

A nuestra querida asesora Dra. Mg. Angélica Minaya Galarreta y Dr. QF Héctor Vílchez Caceda por su paciencia, orientación, corrección y recomendaciones; siendo de guía y de aliento para culminar el presente trabajo de tesis.

A nuestra querida Dra. QF. Elizabeth Rudas Alcántara por su gentileza, paciencia, exigencia, sabios consejos, su maravillosa forma de enseñar siendo de guía constante durante este periodo. Así mismo a nuestra Dra. QF. Melissa Hinostrosa Yucra por brindarnos su apoyo y el aliento de seguir trazando y cumpliendo nuevas metas.

A nuestros grandes amigos Dr. Segundo Leiva, Dr. Erick Rodríguez, José Miguel Palacios, Séfora Pretell, colegas y personas maravillosas, por las experiencias, anécdotas, colaboración y ayuda mutua, pudimos concluir y superar cada obstáculo juntos. Muchísimas gracias a cada uno de ustedes.

Dios les bendiga siempre.

## INDICE DE TABLA

**Tabla N°1:** Reconocimiento fitoquímico de tipos de metabolitos

**Tabla N°2:** Escala de Duraffourd

**Tabla N°3:** Prueba de Solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

**Tabla N°4:** Efecto antimicótico *in vitro* de concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* a través de recuento microbiano

**Tabla N°5:** Efecto antimicótico *in vitro* de concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Aspergillus brasiliensis* de recuento microbiano

**Tabla N°6:** Marcha Fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

**Tabla N°7:** Prueba de ANOVA de la media de halos de inhibición en las cepas de *Candida albicans*

**Tabla N°8:** Método de DSH de Tukey de las medias de halos de inhibición en las cepas de *Candida albicans*

**Tabla N°9:** Subconjuntos homogéneos según el método de DSH de Tukey de las medias de halos de inhibición en las cepas de *Candida albicans*

**Tabla N°10:** Porcentaje de inhibición en las cepas de *Candida albicans* como efecto de las concentraciones del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

**Tabla N°11:** Prueba de ANOVA de la media de halos de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis*

**Tabla N°12:** Método de DSH de Tukey de las medias de halos de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis*

**Tabla N°13:** Subconjuntos homogéneos según el método de DSH de las medias de halos de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis*

**Tabla N°14:** Porcentaje de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis* como efecto de las concentraciones del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

## ÍNDICE DE FIGURA

**Figura N°1:** *Lomanthus truxillensis* Cabrera

**Figura N°2:** Hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

**Figura N°3:** Mapa del Perú – Departamento la Libertad

**Figura N°4:** Cerro Campana – Trujillo – Perú

**Figura N°5:** Estructura molecular del glucósido de la Stevia

**Figura N°6:** Flavonoides, estructura básica y tipos

**Figura N°7:** Clasificación de alcaloides y su biosíntesis

**Figura N°8:** Unión entre un amino alcohol, necina y ácido necico como resultado a los alcaloides

**Figura N°9:** Extracción de los alcaloides en medio alcalino

**Figura N°10:** Extracción de los alcaloides en un medio débilmente ácido

**Figura N°11:** Estructura del triterpeno ácido  $\beta$ -elemónico

**Figura N°12:** Estructura química de los terpenos

**Figura N°13:** Aspecto macroscópico de las colonias de *Candida* spp

**Figura N°14:** Micromorfología de *Aspergillus brasiliensis*

**Figura N°15:** Prueba de Solubilidad de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

**Figura N°16:** Marcha Fitoquímica de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

## ÍNDICE DE GRÁFICO

**Gráfico N°1:** Promedios de halos de inhibición de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*

**Gráfico N°2:** Promedios de halos de inhibición de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans*

**Gráfico N°3:** Porcentaje de inhibición en las cepas de *Candida albicans* como efecto de las concentraciones del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

**Gráfico N°4:** Promedios de halos de inhibición de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Aspergillus brasiliensis*

**Gráfico N°5:** Porcentaje de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis* como efecto de las concentraciones del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

## ÍNDICE DE ANEXO

**Anexo N°1:** Certificación Botánica de la especie *Lomanthus truxillensis* Cabrera. Emitida por el Biólogo Hamilton Beltran

**Anexo N°2:** Certificado de Análisis del Microorganismo *Candida albicans* ATCC 10231

**Anexo N°3:** Certificado de Análisis del Microorganismo *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404

**Anexo N°4:** Muestra recolectada de la especie *Lomanthus truxillensis* Cabrera, depositada en el Herbarium Truxillense (HUT) con el código N° 59265

**Anexo N°5:** Matriz de Consistencia

**Anexo N°6:** Ficha de Recolección de datos para la “Evaluación de la actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 Y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*”

**Anexo N°7:** Fotos del trabajo de tesis

**Anexo N°8:** Resultados del programa TURN IT IN



## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo principal determinar si el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera tiene actividad antimicótica comprobando así su efecto inhibitorio en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*. La muestra fue recolectada en las lomas costeras del Cerro Campana, distrito de Huanchaco, provincia de Trujillo, región La Libertad, Perú. Se evaluaron las características fisicoquímicas del material vegetal seco. Así mismo, se realizó la marcha fitoquímica para examinar cualitativamente la presencia de sus metabolitos secundarios donde se obtuvo: alcaloides, flavonoides, aminoácido, taninos, quinonas, glicosidos, saponinas, compuestos fenólicos, azúcares reductores y esteroides. Posteriormente se evaluó la actividad antimicótica por el método de difusión de agar (Método de Kirby-Bauer). Las concentraciones administradas del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera fueron de 5%, 15%, 30% y 75%; a las cuáles se le realizó ensayos microbiológicos. Demostrando que el extracto etanólico vegetal tuvo efecto inhibitorio frente a *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*, al aplicar diferentes concentraciones (5%, 15%, 30% y 75%), siendo de concentración mínima inhibitoria el 5% y éste en efecto se incrementa en relación directamente proporcional a las concentraciones utilizadas. Respecto a los halos de inhibición, se logró obtener una sensibilidad límite en concentraciones de 5% y 15%. Mientras que a concentraciones de 30% y 75%, se logró obtener una sensibilidad mayor, donde se evidenció la actividad antimicótica significativa. Puesto que el cultivo de *Candida albicans* presentó mayor sensibilidad frente al extracto etanólico de concentración 75% con un promedio de 22,01mm (halo de inhibición) siendo más eficaz en la actividad antimicótica, mientras que, frente al cultivo *Aspergillus brasiliensis* presentó un promedio de 9,96mm (halo de inhibición), encontrándose una diferencia estadística con  $p < 0,05$ .

**Palabras clave:** *Lomanthus tuxillensis* Cabrera, actividad antimicótica, efecto inhibitorio, halo de inhibición.

## ABSTRACT

The main objective of this study was to determine if the extract ethanolic of the leaves of *Lomanthus truxillensis* Cabrera has activity antimycotic thus confirming its inhibitory effect in strains of *Candida albicans* and *Aspergillus brasiliensis*. The sample was collected in the coastal hills of Cerro Campana, district of Huanchaco, province of Trujillo, La Libertad region, Perú. The physicochemical characteristics of the dry plant material were evaluated. Likewise, the phytochemical march was realized to qualitatively examine the presence of its secondary metabolites where it was obtained: alkaloids, flavonoids, aminoacid, tannins, quinones, glycosides, saponins, phenolic compounds, reducing sugars and steroids. Subsequently the antimycotic activity by the agar diffusion method (Method of Kirby-Bauer). The concentrations administered of the extract of *Lomanthus truxillensis* Cabrera were 5 %, 15%, 30% and 75%; to which it was made microbiological assays. Proving that the vegetable ethanolic extract had inhibitory effect against *Candida albicans* and *Aspergillus brasiliensis*, when applying different concentrations (5%, 15%, 30% and 75%), being of minimum inhibitory concentration 5% and this in effect increases in relation directly proportional to the concentrations used. Regarding the inhibition haloes, managed to get a sensitivity limit in concentrations of 5% to 15%. Whereas to concentrations of 30% and 75%, it was achieved to obtain a major sensibility, where there was demonstrated the antimycotic significant activity. Since the cultivation of *Candida albicans* showed greater sensitivity to the ethanol extract of 75% concentration with an average of 22.01mm (halo of inhibition) being more effective in the antimycotic activity, whereas, compared to the *Aspergillus brasiliensis* cultivation, presented an average of 9.96mm (halo of inhibition), finding a statistical difference with  $p < 0.05$ .

**Keywords:** *Lomanthus truxillensis* Cabrera, antimycotic activity, inhibitory effect, halo of inhibition.

# ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE DE TABLA

ÍNDICE DE FIGURA

ÍNDICE DE GRÁFICO

ÍNDICE DE ANEXO

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>2</b>
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2 Formulación del problema.....	4
1.2.1 Problema general .....	4
1.2.2 Problemas específicos.....	4
1.3 Objetivos de investigación.....	4
1.3.1 Objetivo general.....	4
1.3.2 Objetivos específicos .....	5
1.4 Justificación .....	5
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>7</b>
2.1 Antecedentes .....	7
2.1.1 Antecedentes nacionales .....	7
2.1.2 Antecedentes extranjeras .....	10
2.2 Bases teóricas .....	13
2.2.1 <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera.....	13
2.2.1.1 Historia .....	13
2.2.1.2 Descripción Botánica .....	13
2.2.1.3 Distribución y Hábitat .....	14
2.2.1.4 Taxonomía.....	15
2.2.1.5 Especies .....	16
2.2.1.6 Condiciones de cultivo .....	16
2.2.1.7 Composición química.....	17
2.2.1.8 Propiedades.....	33
2.2.2 Extracto Etanólico.....	34

2.2.3 Métodos de Extracción .....	36
2.2.3.1 Extracción fluido supercríticos.....	36
2.2.3.2 Extracción sólido-líquido .....	37
2.2.3.3 Extracción líquido-líquido .....	37
2.2.3.4 Extracción por centrifugación .....	37
2.2.3.5 Extracción en fase sólida .....	37
2.2.3.6 Maceración .....	37
2.2.3.7 Percolación .....	38
2.2.4 Marcha Fitoquímica .....	38
2.2.5 Hongos .....	39
2.2.5.1 Nutrición y metabolismo.....	39
2.2.5.2 Características .....	39
2.2.6 <i>Candida albicans</i> .....	40
2.2.6.1 Características .....	40
2.2.6.2 Propiedades.....	41
2.2.6.3 Viabilidad, propagación y transmisión .....	41
2.2.6.4 Supervivencia ambiental .....	42
2.2.6.5 Mecanismo de propagación y transmisión .....	42
2.2.6.6 Vía de entrada .....	42
2.2.6.7 Infección .....	42
2.2.6.8 Efectos alérgicos.....	42
2.2.6.9 Prevención y control .....	43
2.2.6.10 Patogenia.....	43
2.2.7 <i>Aspergillus brasiliensis</i> .....	45
2.2.7.1 Características .....	45
2.2.7.2 Mecanismo de Acción de los <i>Aspergillus</i> .....	45
2.2.7.3 Supervivencia ambiental .....	46
2.2.7.4 Forma de resistencia .....	46
2.2.7.5 Mecanismo de propagación y transmisión .....	46
2.2.7.6 Vías de entrada.....	46
2.2.7.7 Infección .....	46
2.2.7.8 Efectos alérgicos.....	47
2.2.7.9 Efectos tóxicos.....	47
2.2.7.10 Efectos cancerígenos.....	47
2.2.7.11 Prevención y control .....	47

2.2.7.12 Patogenia.....	48
2.2.8 Actividad Antimicótica .....	51
2.2.8.1 Definición .....	51
2.2.8.2 Características .....	51
2.2.8.3 Clasificación de los antifúngicos .....	52
2.2.8.3.1 Clasificación de los antifúngicos por su estructura .....	52
2.2.8.3.2 Clasificación de los antifúngicos por su sitio de acción en el hongo .....	53
2.2.8.4 Mecanismo de acción de los antifúngicos .....	53
2.2.8.4.1 Acción de los antifúngicos sobre la membrana celular del hongo .....	53
2.2.8.4.2 Antifúngicos que actúan sobre la pared celular del hongo ...	54
2.2.8.4.3 Antifúngicos que actúan sobre el núcleo de la célula fúngica.....	55
2.2.8.5 Estructura de los antifúngicos .....	55
2.2.9 Fármaco .....	57
2.2.9.1 Fluconazol .....	57
2.2.9.1.1 Características .....	57
2.2.9.1.2 Solubilidad .....	57
2.2.9.1.3 Mecanismo de Acción .....	57
2.2.9.1.4 Biodisponibilidad .....	58
2.2.9.1.5 Eficacia del Fluconazol .....	58
2.3 Formulación de las hipótesis .....	59
2.3.1 Hipótesis general .....	59
2.3.2 Hipótesis específicas .....	59
2.4 Variables .....	60
2.4.1 Tabla de Operacionalización de Variables .....	60
2.5 Marco Conceptual.....	61
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....</b>	<b>63</b>
3.1 Tipo de estudio .....	63
3.2 Diseño de investigación .....	63
3.3 Población .....	64
3.3.1 Población microbiológica .....	64
3.3.2 Población vegetal .....	64
3.4 Muestra.....	64
3.4.1 Muestra microbiológica .....	64

3.4.2 Muestra vegetal .....	64
3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	64
3.5.1 Técnica de recolección de datos .....	64
3.5.2 Procedimiento experimental .....	67
3.5.2.1 Recolección de especie .....	67
3.5.2.2 Determinación taxonómica de la especie .....	67
3.5.2.3 Preparación del material vegetal .....	67
3.5.2.4 Preparación del extracto etanólico .....	68
3.5.2.5 Análisis cualitativo de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera .....	68
3.5.2.5.1 Prueba de solubilidad .....	68
3.5.2.5.2 Marcha fitoquímica del extracto .....	69
3.5.2.6 Estudio microbiológico .....	70
3.5.2.6.1 Actividad antimicótica .....	70
3.5.2.6.2 Obtención de microorganismos .....	70
3.5.2.6.3 Preparación del medio de cultivo .....	70
3.5.2.6.4 Preparación de las concentraciones .....	70
3.5.2.6.5 Preparación del inóculo y estandarización .....	70
3.5.2.6.6 Prueba de la actividad antimicótica .....	71
3.5.2.6.7 Determinación de la concentración fungicida .....	73
3.5.3 Instrumento de Recolección de Datos .....	74
3.5.4 Validación del Instrumento .....	74
3.6 Procesamiento de Datos .....	74
<b>CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>76</b>
4.1 Presentación de Resultados .....	76
4.1.1 Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera .....	76
4.1.2 Recuento microbiano en cepas de <i>Candida albicans</i> .....	78
4.1.3 Recuento microbiano en cepas de <i>Aspergillus brasiliensis</i> .....	79
4.2 Contrastación de hipótesis .....	80
4.2.1 Contrastación de hipótesis general .....	80
4.2.2 Contrastación de hipótesis específicas .....	81
4.3 Discusión de Resultados .....	94
<b>CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>98</b>
5.1 Conclusiones .....	98
5.2 Recomendaciones .....	99

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100
ANEXOS.....	110

## INTRODUCCIÓN

Desde años atrás las denominadas infecciones fúngicas continúan afectando a gran parte de la población, a causa del desarrollo de microorganismos que han adoptado mayor resistencia bacteriana, siendo aún más susceptibles en pacientes con sistema inmune débil<sup>2</sup>. En consecuencia, frente a esto los fármacos se tornan muchas veces ineficaces para el tratamiento de un sin número de dolencias infecciosas. Sin embargo, globalmente el uso de medicamentos tradicionales o populares, cumplen un rol muy importante ya que las especies vegetales utilizadas poseen uno o más principios activos con fines curativos para diversas enfermedades<sup>95</sup>.

The World Health Organization (WHO) promueve la investigación y el desarrollo de nuevos agentes farmacológicos puesto que en diversas regiones del mundo no cuentan con medicina avanzada. Como fuente de elección usaron plantas naturales que posean componentes activos desarrollando así una medicina tradicional alternativa<sup>96</sup>. En el Perú existen una variedad de especies vegetales, según estudios comprobados poseen propiedades terapéuticas<sup>5</sup>.

Esto profundiza el conocimiento de las especies vegetales impulsando la investigación de las propiedades medicinales que de ella se extraen para el empleo de formas farmacéuticas siendo una fuente valiosa para el tratamiento de enfermedades complejas<sup>97</sup>. La finalidad de esta investigación es validar el conocimiento sobre la actividad antimicótica que produce la especie *Lomanthus truxillensis* cabrera para la elaboración de nuevos fármacos siendo de utilidad en enfermedades farmacorresistentes. Así mismo, se convierta en una alternativa asequible para la población que no cuente con acceso de salud convencional y dependan de la medicina herbaria.

En el presente trabajo de investigación exponemos los resultados obtenidos del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* cabrera, que permiten sus uso como agente antimicótico frente a hongos patógenos como *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*.



## CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 Descripción de la realidad problemática

En la indicación de Warnock D. (2007)<sup>1</sup>, en la actualidad, la incidencia de las infecciones micóticas ha aumentado en los últimos 20 años, principalmente, en la población de individuos inmunodeficientes. Eso genera resistencia de algunas especies de *Aspergillus* y *Candida* a antimicóticos, como la anfotericina B, el fluconazol, el itraconazol y el voriconazol lo que se convierte en un problema para poblaciones como las nuestras.

De otro lado López S. (2001)<sup>2</sup> las infecciones fúngicas, sistémicas y dérmicas son la causa de enfermedades mortales en pacientes con sistema inmunitario debilitados debido al SIDA u otras afecciones, siendo la dermatomycosis un problema de población como consecuencia de un cuidado sanitario deficiente.

WHO (2002)<sup>3</sup> La Organización Mundial de la Salud (OMS 2002) hizo un llamado a los países para controlar la resistencia antimicrobiana; promoviendo la investigación y desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos. Navarro V., et al. (2003)<sup>4</sup> En los últimos años, las personas que recibieron tratamiento en diferentes centros de salud generó el incremento de enfermedades fúngicas debido a ser las más propensas a sufrir este tipo de infecciones, ya que su sistema inmune es muy susceptible a este tipo de microorganismos.

Desmarchelier C. (2000)<sup>5</sup> La Amazonia peruana es una zona con mayor diversidad vegetal ya que conviven en la zona el 8% del total de especies vegetales, lo cual menor al 1% ha sido estudiado, por lo tanto su estudio podrá llevar al descubrimiento de gran número de nuevas moléculas bioactivas con posible aplicación terapéutica, Escamilla B., Moreno P. (2015)<sup>6</sup> siendo accesible, asequible y de única fuente para la atención sanitaria de menores recursos.

Carranza D., Huayanay V. (2009)<sup>7</sup> Aún existen plantas que no se han estudiado en su totalidad como se conoce a la familia *Asteraceae* ya que

posee una gran diversidad de flora nativa Brito A., Arana C. (2014)<sup>8</sup> lo cual el género *Senecio* es quien posee un mayor número de especie.

Pelser P., et al. (2007)<sup>9</sup> La familia *Asteraceae* es de gran importancia para la economía del Perú por sus diversas especies ya que son utilizadas con el propósito medicinal siendo de estudio nuevo alternativo.

Pelser P., et al. (2009)<sup>10</sup> Esta familia *Asteraceae* por ser de estudios e investigaciones recientes genera la actualización del estudio taxonómico en el campo botánico, lo cual concierne la segregación que ha sufrido el género *Senecio*, *Vernonia*, etc.

Se han descubierto estudios referentes a la familia de esta especie en Trujillo – La Libertad Marcos A., Mendieta L. (2015)<sup>11</sup> que, mediante el estudio de tamizaje fitoquímico del extracto hidroetanólico de las hojas de *Senecio truxillensis* Cabrera se encontró gran variedad de fitoconstituyentes como lactonas, azúcares reductores, triterpenos, saponinas, esteroides, aminoácidos, flavonoides, antocianidinas, taninos y alcaloides. Mientras que para la determinación de su actividad antibacteriana se realizaron concentraciones del extracto hidroetanólico y como resultado se obtuvo la inhibición del crecimiento bacteriano para *S. aureus* y *E.coli*. En otro estudio de Malca J., Rodríguez C. (2017)<sup>12</sup> se determinó los fitoconstituyentes presentes en las hojas de *Lomanthus truxillensis* procedentes del valle El Platanar de la provincia de Otuzco, región de La Libertad. Donde los resultados para el extracto acuoso fueron, saponinas, azúcares reductores, alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides. Para el extracto etanólico tales como alcaloides, flavonoides, esteroides, lactonas, aminoácidos, antocianidinas, saponinas, azúcares reductores y compuestos fenólicos. Para el extracto diclorometánico tales como esteroides, alcaloides y ácidos grasos.

Esta situación problemática ha propiciado la ejecución de la presente investigación, cuyo propósito en primer término es determinar la “Actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*”, mediante un estudio *in vitro*, el cual se constituirá en fuente para en adelante realizar estudios *in vivo* que permitan proponer la

elaboración de productos farmacéuticos a base de extractos vegetales para el control de microorganismos involucrados en diferentes situaciones.

## **1.2 Formulación del problema**

### **1.2.1 Problema general**

¿El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera tendrá actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*?

### **1.2.2 Problemas específicos**

- 1) ¿Qué tipo de metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera serían los posibles responsables de la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*?
- 2) ¿La concentración del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera influirá en la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, *in vitro*?
- 3) ¿La concentración del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera influirá en la actividad antimicótica en cepas de *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*?

## **1.3 Objetivos de investigación**

### **1.3.1 Objetivo general**

Determinar si el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera tiene actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.

### 1.3.2 Objetivos específicos

- 1) Determinar los tipos metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera son los posibles responsables de la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.
- 2) Determinar la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera que influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, *in vitro*.
- 3) Determinar la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera que influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.

### 1.4 Justificación

Actualmente los denominados hongos son agentes de tipo infeccioso provocando enfermedades que afectan a gran parte de la población. El uso terapéutico de plantas naturales nos va a permitir optar por una terapia alternativa debido a que en la industria farmacéutica el uso de fármacos es efectiva, pero el exceso puede producir efectos adversos y complicaciones en el organismo.

El género *Senecio* posee diversas propiedades medicinales en el tratamiento del asma bronquial y resultados óptimos como efecto antiinflamatorio, analgésico, antioxidante y antimicrobiano. Este proyecto se realizó con el objetivo de determinar si el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera por medio de sus metabolitos posee actividad antimicótica, inhibiendo el crecimiento de microorganismos, las cuales podrían ser alternativas de prevención y tratamiento de hongos. Si logramos brindar mayor información a la mayoría de personas se evitará el uso irracional de medicamentos. Con

la elaboración de formas farmacéuticas como cremas, geles, ungüentos se podría aprovechar más sus propiedades que tiene dicha planta medicinal.

La investigación servirá de base para contribuir investigaciones futuras, a dilucidar el conocimiento etnobotánico así mismo por sus principios activos naturales beneficiará al campo farmacéutico ya que aportará propuestas innovadoras respecto a la medicina natural sobre la existencia de plantas medicinales con propiedades antifúngicas.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

#### 2.1.1 Antecedentes nacionales

**Dueñas M. (2013)<sup>13</sup>** “El estudio tuvo el objetivo de demostrar la “Actividad antimicótica *in vitro* del aceite esencial del *Minthostachys acris Schmidt-Leb* (muña), distrito de Lamay provincia de Cusco sobre cepas de *Sporothrix schenckii* aisladas de pacientes clínicamente diagnosticados con esporotricosis de la Clínica Santa Teresa de Abancay”. Para la toma de muestra e identificación de la especie se siguió la técnica recomendada por el “Instituto Nacional de Salud” (INS 1996). Las cepas aisladas fueron remitidas al INS para la confirmación de la especie *Sporothrix schenckii*. El aceite esencial se obtuvo a partir de las hojas de *Minthostachys acris Schmidt-Leb*. Se utilizó dos metodologías una es la de difusión en agar para las fases de los hongos que es levaduriforme y micelial y la otra que fue la dilución en tubo en la fase micelial. Por el método de destilación por arrastre de vapor de agua el cual fue sometido a análisis fisicoquímico y determinación de la composición química mediante cromatografía de gases (CG), obteniéndose los siguientes monoterpenos: Pulegona en mayor porcentaje, mentona y limoneno; como posibles responsables de la actividad fungicida-fungistática. Como resultado se obtuvo por el método difusión en agar, donde se determinó la actividad antimicótica mediante su observación en el diámetro del halo de inhibición, se mostró en el inicio de la actividad antimicótica a partir del 1% de concentración de aceite en su fase levaduriforme y en la fase micelial el inicio de la actividad antimicótica a partir del 1 % de concentración de aceite. En las fases el diámetro medio del halo de inhibición de la anfotericina B donde fue menor al diámetro medio del halo de inhibición del aceite a una concentración de 10%. Como resultado en el método de dilución en tubo para la fase micelial del hongo no se obtuvo crecimiento a los volúmenes de 50µL, 25µL, 10µL, 5µL, 4µL, 3µL y 2µL, pero se obtuvo un ligero

crecimiento al volumen de 1µL. “Concluyendo que el aceite esencial de la muña *Minthostachys acris* Schmidt-Leb tiene efecto antimicótico sobre *Sporothrix schenckii* de sus dos fases, viendo que es más susceptible la fase levaduriforme”.

**Rodríguez C., Ríos M. (2013)<sup>14</sup>** El objetivo del estudio fue “Evaluar la actividad antimicótica del extracto acuoso liofilizado de las muestras que fueron hojas de *Clibadium surinamense* L. (Huaca). La muestra de *Clibadium surinamense* (hojas) fue recolectada en la comunidad de san andres, Distrito de Villa Punchana, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto”. El lugar de muestreo se eligió debido a que la comunidad realiza pesca artesanal con huaca. La muestra se identificó taxonómicamente en el Herbarium Amazonense (AMAZ) de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP) donde fue procesado en el laboratorio de Fitoquímica del Instituto de Medicina Tradicional (IMET). Este estudio siguió utilizando la metodología de la microdilución para los hongos filamentosos 128. La muestra fue secada por 72 horas en una cámara provista con deshumidificador a 40±2°C; Luego se realizó la molienda se procedió a la cocción a 60°C por 3 horas y a su posterior liofilización. Luego se procedió a la determinación de las características farmacognósticas y del Screening fitoquímico de la muestra liofilizada. El tamizaje fitoquímico del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Clibadium surinamense* L. (Huaca). Los resultados fueron que se encontró la presencia de alcaloides, triterpenos-esteroides, flavonoides y saponinas, y se reportó que habían pequeñas proporciones de principios amargos - astringentes y glicósidos; para el estudio de la actividad antifúngica se utilizó cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 y *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 24953. Se demostró que los factores de concentración y el tiempo de incubación si influyen en la sensibilidad de los hongos de tipo filamentosos a los antimicóticos. Donde se puede apreciar que la actividad a mayores concentraciones a 20 y 10 mg/l y en pequeña actividad a concentraciones de 0.07 y 0.03 mg/l se mostró que a mayor concentración del extracto acuoso liofilizado será mayor la

actividad antifúngica. Se concluyó que el extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Clibadium surinamense* L. “huaca” presentó actividad antimicótica in vitro sobre *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*.

**Marcos A., Mendieta L. (2015)**<sup>11</sup> El estudio tuvo como objetivo “Determinar los fitoconstituyentes del extracto hidroetanólico de las hojas de *Senecio truxillensis* Cabrera y evaluando el efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. La muestra recolectada fueron las hojas de *Senecio truxillensis* Cabrera, en el cerro campana, Huanchaco, La Libertad”. Metodología empleada para el tamizaje fitoquímico fue mediante el método de Martínez y Cuellar y el método de difusión en agar con pozos según Kirby- Bauer para la actividad antibacteriana. Se utilizó la extracción hidroetanólica de las hojas mediante el método de Soxhlet con etanol al 70%. Los resultados dieron una gran variedad de fitoconstituyentes como azúcares reductores, lactonas, triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, aminoácidos, flavonoides, antocianidinas y alcaloides. Se realizó a diferentes concentraciones la primera de concentración de 5% p/v, la segunda de 15% p/v y la tercera fue de 30 p/v del extracto hidroetanólico, inhibición el crecimiento bacteriano de las cepas estudiadas. Concluyendo la que presentó mayor porcentaje de inhibición fue la de 30% p/v con un 81.9% para *Staphylococcus aureus* y 69.3%, para *Escherichia coli*, pudiendo encontrarse diferencias estadísticamente significativas con  $p < 0.05$ .

**Malca J., Rodríguez C. (2017)**<sup>12</sup> El estudio de investigación, tiene el objetivo de “Determinar los fitoconstituyentes teniendo como muestra las hojas de *Lomanthus truxillensis* procedente del valle El Platanar de la provincia de Otuzco, La Libertad. El tamizaje fitoquímico se realizó mediante una extracción sucesiva con solventes de polaridad ascendentes (diclorometano, etanol 70° y agua destilada), y se procedió a realizar la identificación del tipo cualitativo, haciendo uso de reactivos



de coloración y precipitación, utilizando el método de Miranda y Cuellar". Los resultados que se obtuvieron en el tamizaje fitoquímico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* la presencia de alcaloides en los extractos diclorometánico, etanólico y acuoso. Viendo que el extracto acuoso poseen una gran cantidad de alcaloides. En conclusión se encontraron en el extracto acuoso los siguientes fitoconstituyentes tales como: alcaloides, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos y flavonoides. En el extracto etanólico se evidenció la presencia de fitoconstituyentes como: lactonas, esteroides, alcaloides, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, aminoácidos y antocianidinas. Y por último en el extracto diclorometánico se encontró los siguientes fitoconstituyentes: ácidos grasos, alcaloides y esteroides.

### 2.1.2 Antecedentes extranjeros

**Rivera M. (2007)**<sup>15</sup> El objetivo del estudio fue "Determinar la actividad antifúngica de seis extractos de hierbas usadas medicinalmente *contra Fonsecaea pedrosoi* y *Sporothrix schenckii* se probó con las seis muestras de los extractos de hierba contra *Sporothrix schenckii*, la muestra de *Dorstenia contrajerva* (contrahierba) "raíz" y muestra de *Hedyosmum mexicanum* (palo de agua) "hoja". El método utilizado para estos hongos filamentosos que lo describe Brancato & Golging que fue modificado por MacRae, para hacer un estudio contra la fase micelial de *S.schenki* y *F.pedrosoi*, así contra la fase levaduriforme de *S.schenki*. El extracto etanólico de la *Hedyosmum mexicanum* (palo de agua) "hoja" presentó la mejor actividad antifúngica contra la fase micelial de *S. schenckii* (0.05 mg/mL). El extracto etanólico de *Dorstenia contrajerva* (contrahierba) "raíz" presentó la mejor actividad antifúngica contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii* (0.1 mg/mL). El extracto etanólico de *Baccharis trinervis* (chilca) "hoja" fue el único que presentó actividad antifúngica positiva contra *Fonsecaea pedrosoi* a una concentración de 0.2 mg/mL. Basándose en los resultados obtenidos en la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) la fase micelial de *S. schenckii*, es más susceptible a los componentes químicos activos, presentes en los

extractos tiene actividad positivas en los hongos. En conclusión que los extractos de *Lippia chiapasensis* (orégano), *Petiveria alliacea* (anámu) y *Ocimum micranthum* (albahaca), los cuales no demostraron tener actividad positiva en el tamizaje realizado contra *F. pedrosoi* y *S. schenckii*, y que muestran actividad etnomedicinal en el tratamientos de afecciones de la piel puede deberse a que los compuestos químicos activos se encuentren en otros segmentos de la planta y no en la parte específica utilizada en este ensayo.

**Lizcano M. (2007)<sup>16</sup>** El objetivo principal de este estudio sobre “Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de *Thymus vulgaris* (Tomillo) contra *Botrytis cinérea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*” causantes de enfermedades en Albahaca (*Ocimum basilicum*), haciendo que cultivos enteros se pierdan debido a la baja calidad y a la muerte total de las plantas”. El estudio se desarrolló en los laboratorios y en los invernaderos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia. Se tomó como muestra al *Thymus vulgaris* (Tomillo) y se evaluó el extracto del *Thymus vulgaris* (Tomillo) a concentraciones de 150, 250 y 500g/L con dos tiempos de tratamiento térmico (15 y 30 min). Las pruebas realizadas fueron *in vitro*; se obtuvo un medio de cultivo con los extractos y se evaluó la tasa de crecimiento radial de los hongos. El tratamiento de 500 g/L y 30 minutos fue el que obtuvo mejores resultados, se le adicionó a plantas de albahaca inoculadas con *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*. En la prueba de Invernadero se evaluó la actividad del el extracto de *Thymus vulgaris* (Tomillo) en forma preventiva y curativa o de control de la enfermedad, se estimó el porcentaje de incidencia y severidad. Después de ser evaluados los resultados se obtuvo que el extracto de *Thymus vulgaris* (Tomillo) puede disminuir el crecimiento de *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Conclusiones: al adicionarse sobre las plantas inoculadas se redujo la expresión de los síntomas de las enfermedades.

**Gaitán I. (2005)**<sup>17</sup> El trabajo de investigación cuyo objetivo es “Determinar la actividad antifúngica de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii*. Se utilizaron 17 extractos de 12 plantas que fue nativo de Guatemala contra el *Sporothrix schenckii* para la fase micelar como levaduriforme, donde el método utilizado fue para los hongos filamentosos que son descritos por Brancato & Golding que fue modificado a MacRae”. En el ensayo de la actividad antifúngica de los extractos utilizados dieron como resultados en la fase miceliar de forma positiva en la muestra de *Lippia graveolens* (orégano mexicano) “hoja” y la muestra de *Valeriana prionophyll* (valeriana) “raíz”, donde las concentraciones inhibitorias mínimas fueron de 0.1 y 0.025 mg/mL. Se presentó actividad de 0.25 mg/mL con la muestra de *Hypericum uliginosum* (planta de conejo) (hierba) y muestra de *Smilax domingensis* (zarzaparrilla) “tallo”; y a una concentración de 0.5 mg/mL con muestra de *Lippia graveolens* (orégano mexicano) “hoja”, la muestra de *Salvia lavanduloides* (alucema) “hoja”-“flor”, la muestra de *Senna alata* (marzoquilla) “hoja” y la muestra de *Valeriana prionophylla* (valeriana) “raíz”. Su concentración inhibitoria mínima de los extractos positivos donde se partió de un punto de corte de 1mg/mL, como se planteó en la metodología. Se concluyó que el “Extracto de hoja de *Valeriana prionophylla* presentó la mejor actividad antifúngica contra *Sporothrix schenckii* en su fase micelial (0.025 mg/ml). En el ensayo de la actividad antilevadura, *Hypericum uliginosum* (hierba) y *Smilax domingensis* (tallo) son los extractos que presentan mejores resultados (0.25 mg/ml)”. Basándose en la cantidad de extractos positivos para cada una de las fases del hongo, la fase levaduriforme es más susceptible a los compuestos presentes en las plantas responsables de la actividad antifúngica.

## 2.2 Bases teóricas

### 2.2.1 *Lomanthus truxillensis* Cabrera

#### 2.2.1.1 Historia

Soriano M., et al. (2004)<sup>18</sup> La especie *Senecio truxillensis* Cabrera es una planta andina y endémica del Perú, se encuentra distribuido especialmente en el departamento de La Libertad, Provincia Trujillo, Cerro Campana, 697-700 m.s.n.m

Gonzales P. (2006)<sup>19</sup> El trabajo de Pelsner P., et al. (2007; 2009) evaluó, la naturaleza del género *Senecio*, el cual se reconoció como parafilético en relación a las especies de *Senecio ser. Lomincola* previamente designado por Beltrán & Galán de Mera (1996). A consecuencia de ello, Nordenstam & Pelsner (2009) designó el nuevo género *Lomanthus* y sugirieron 17 combinaciones nuevas para transferir nombres de *Senecio* a *Lomanthus*; sin embargo, para la especie *Senecio cantensis* presente en el departamento de Lima quedó sin combinar.

#### 2.2.1.2 Descripción Botánica

Es una planta con base leñosa, capítulos amarillos. Está representada por arbusto ramoso, con ramas redondeadas, costadas, glabras, laxamente hojosas, de 3-4 mm de diámetro. Capítulos radiados, dispuestos en cimas corimbiformes terminales laxas; pedicelos ligeramente glandulosos en la parte superior, con algunas bractéolas filiformes, de 3-4 cm de largo. Involucro acampanado, caliculado, de 10 mm. de altura, por 8 mm de diámetro; bractéolas del cálculo pocas, lineales; brácteas involucradas cerca de 20, lineal-oblongas, atenuadas en el ápice, glabras.

**Hojas:** Alternas (entrenudos de 2-5 cm de longitud), sésiles, las inferiores oblanceoladas, agudas o semiobtusas en el ápice y atenuadas en la base, sinuadodentadas en el margen, glabras en el haz, grisáceo-tomentosas en el envés, con nervadura central gruesa y nervaduras secundarias tenues, de 7-9 cm de longitud, por 1.2 – 2.5 cm de anchura; hojas superiores

oblongoelípticas, semiobtusas en el ápice, redondeadas o acorazonadas y semiabrazadoras en la base, sinuado- dentadas en el margen, de 6 – 10 cm de largo, por 2.5 – 5 cm de ancho.

**Flores:** Amarillas dimorfas: las marginales femeninas, liguladas, con tubo delgado, con unos 7 mm de longitud, y lígula oblonga, tridentada en el ápice de 10 mm de largo, por 2 mm de ancho; flores del disco numerosas, hermafroditas, tubulosas, de 8-9 mm de largo, 10-nervadas, con limbo pentadentado: dientes lanceolados de 1 mm de largo. Ramas del estilo truncadas en el ápice y con una coronita de pelos. Aquenios cilíndricos, densamente seríceopubescentes. Papus blanco.



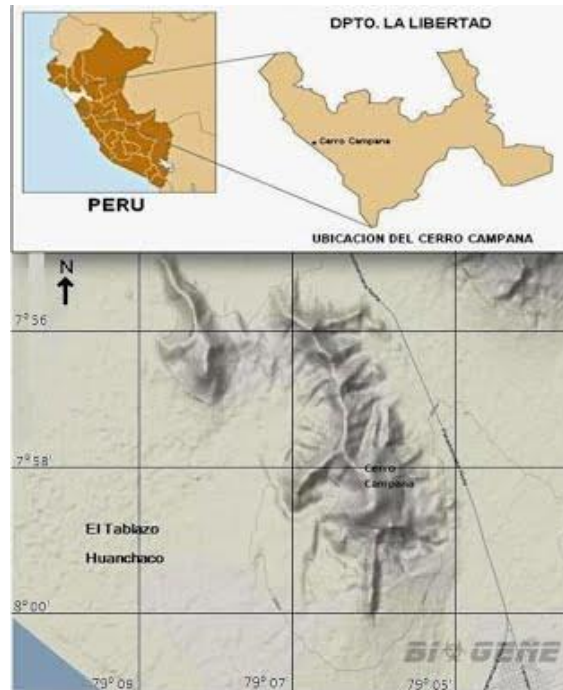
**Figura 1.** *Lomanthus truxillensis*  
Cabrera  
**Fuente:** Herbarium Truxillense (HUT)



**Figura 2.** Hojas *Lomanthus truxillensis* Cabrera  
**Fuente:** H. Beltran

### 2.2.1.3 Distribución y Hábitat

La especie de *Lomanthus truxillensis* Cabrera es una planta oriunda del Perú, su procedencia se ubica en las laderas pedregosas del cerro campana, perteneciente al distrito de Huanchaco, en Trujillo, creciendo a una altitud aproximada de 700 m.s.n.m.



**Figura 3.** Mapa del Perú – La Libertad - Trujillo  
**Fuente:** Carlos Quiroz, 2008

#### 2.2.1.4 Taxonomía

Ha sido estudiada y clasificada como *Lomanthus truxillensis* Cabrera (Sin.= *Senecio truxillensis* Cabrera). Según el Sistema de Clasificación de Cronquist. Realizada en el Museo de Historia Natural para su verificación taxonómica y luego registrada y depositada en el Herbarium Truxillense (HUT) con el código N° 59265.

**Reino:** Plantae

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Subclase:** Asteridae

**Orden:** Asterales

**Familia:** Asteraceae

**Género:** *Lomanthus*

**Especie:** *Lomanthus truxillensis* (Cabrera)

**Sin.=** *Senecio truxillensis* Cabrera

**Constancia emitida por Blgo.** Halmilton Beltrán (Anexo N°1)

### 2.2.1.5 Especies

Existen una diversidad en la especie del *Senecio* existen:

*Senecio abadianus*

*Senecio albaniae* H.Beltrán

*Senecio arnaldii* Cabrera

*Senecio calachaquensis* Cabrera

*Senecio cerrateae* Cabrera

*Senecio fosbergii* Cuatrec

*Senecio icaensis* H.Beltrán

*Senecio lomincola* Cabrera

*Senecio mollendoensis* Cabrera

*Senecio okopanus*

*Senecio subcandidus* A. Gray

*Senecio tovari* Cabrera

*Senecio Velarde* Cabrera

*Senecio yauyensis* Cabrera

### 2.2.1.6 Condiciones de cultivo

Es una especie donde se desarrolla en laderas pedregosas. Se encuentra plantado en Loma ACP Cerro Campana. Requiere humedad pero es una especie poco exigente.



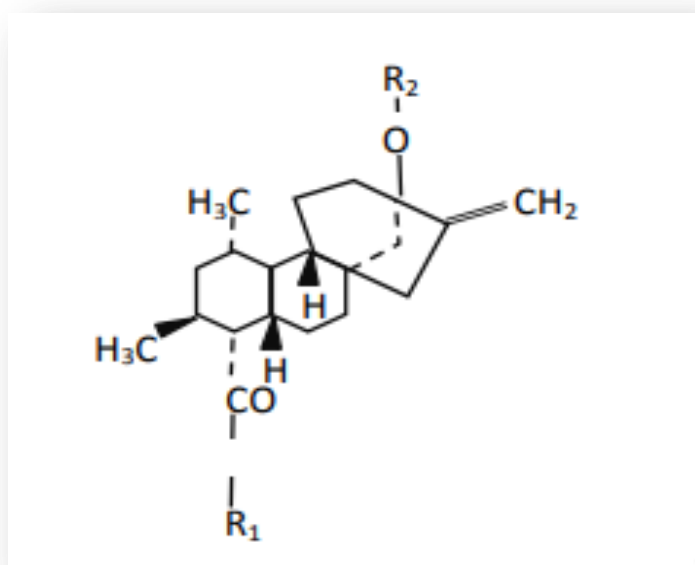
**Figura 4.** Cerro Campana – Trujillo - Perú  
**Fuente:** Raquel Flores, 2016

### 2.2.1.7 Composición química

**Hojas:** Presencia de catequinas, azúcares reductores, lactonas, triterpenos y esteroides, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, aminoácidos, flavonoides, antocianidinas y alcaloides. La presencia de estos fitoconstituyentes al comparar con diferentes especies del género *Senecio*, como *Senecio clavus*, *Senecio comosus* y *Senecio klatti* coinciden en presencia de metabolitos tales como compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos, alcaloides y esteroides. Tamariz C., et al. (2001)<sup>20</sup> Siendo también la especie de *Senecio culcitoides* presentan glicósidos, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides lactonas y alcaloides metabolitos encontrados en la especie.

#### 1. Glicósidos

Cosco D. (2010)<sup>21</sup> Están presentes en las plantas ya que es un compuesto químico que está constituido por un azúcar (como ejemplo la glucosa) unida por una parte que no es azúcar (conocido como aglucona o genina). Esta molécula de genina debe separarse para que se active. Donde se separan por fragmentos que posee la misma planta y se activa por la presencia del agua.



**Figura 5.** Estructura molecular del glicosido de la Stevia.

**Fuente:** Soto y del Val 2002



Estas plantas pueden ser divididas según las características que tienen las geninas. Lo que tiene en común cada familia es que posee un tipo de compuesto conocido como la genina, por ejemplo tenemos a la familia de las crucíferas.

Dentro de los cuales tenemos a tipos de glicósidos tales como:

### **1.1 Glicósidos sulfurados**

Este tipo de glicósidos es por la presencia de una genina azufrada. Posee propiedades antibióticas. Mediante la maceración que son unos 10 minutos por medio de agua tibia, se puede observar la presencia de la genina que ha sido aislada de la parte azúcar donde se activa. Ejemplo de las diferentes plantas tenemos: ajo, cebolla, nabo, rabanito.

### **1.2 Glicósidos cianógenos**

En este tipo de glicósidos vemos que la genina tiene nitrógeno como tiene el ácido cianhídrico.

Este método está presente especialmente en las semillas de las rosáceas, caprifoliáceo y lináceas. Poseen propiedades medicinales tales como anestésicas, antiespasmódicas, ayudan a mejorar la respiración y la digestión. Dentro de este grupo tenemos al cerezo, el guindo y el almendro.

### **1.3 Glicósidos fenólicos**

El compuesto de la aglicona que posee un grupo OH este se encuentra unido a través de un grupo bencénico. Mayormente se encuentran en la savia de los brotes jóvenes y también en la corteza que posee algunos árboles (sauce y alamo). Se encuentra dos compuestos importantes como: la arbutina y salicina.

La salicina mediante estudios podemos saber que tiene propiedades febrífugas y antipiréticas estas actúan a nivel central y el otro a nivel vascular. A través de este principio activo se obtuvo como base para la producción de la forma sintética del ácido acetilsalicílico.

En la separación de aglicona con el grupo glucídico se obtiene mediante la maceración de 15 días con agua fría. En este grupo encontramos al álamo, el sauce, el peral, etc.

#### **1.4 Glicósidos flavonoides**

Tenemos la aglicona que es un colorante (flavona= amarillo) antiguamente era utilizada como tinte. Dentro de su acción terapéutica posee vitamina C, donde después se identifica esta sustancia, conocida como rutosido o también llamada vitamina P. Son solubles en agua, estos actúan sobre el sistema cardiaco más específico en el corazón y disminuyendo la fragilidad capilar. Tenemos como ejemplo: el mastuerzo, el girasol, la ruda y el sauco.

#### **1.5 Glicósidos cumarínicos**

Este tipo de glicósidos son ésteres de ácidos compuestos, ácidos fenoles, tiene un olor a heno. Están presentes en las plantas de las familias gramíneas y en las umbelíferas. Éstas poseen propiedades antibacterianas. Debido a su efecto anti- vitamina K son tóxicos para los animales. En este grupo tenemos a la avena, el trébol, el apio y la barbaná.

#### **1.6 Glicósidos ranunculósidos**

Está presente en la familia de las ranunculáceas, éstas poseen alcaloides, cardiotónicos, saponinas y presencia de lactonas volátiles que son proporcionadas por un heterósido. Que es la unión de una ranunculina con la glucosa. Donde se puede conservar solo en las preparaciones alcoholadas o también las plantas frescas. Pueden irritar la piel y el sistema digestivo. No son utilizadas debido a su toxicidad.

#### **1.7 Glicósidos antracénósidos**

Entre estas se tiene a la aglicona, compuesto fenólico que es usado como colorante para la textilera. No puede ser metabolizado por el organismo humano y su eliminación es por vía biliar a los intestinos.

## 2. Compuestos Fenólicos

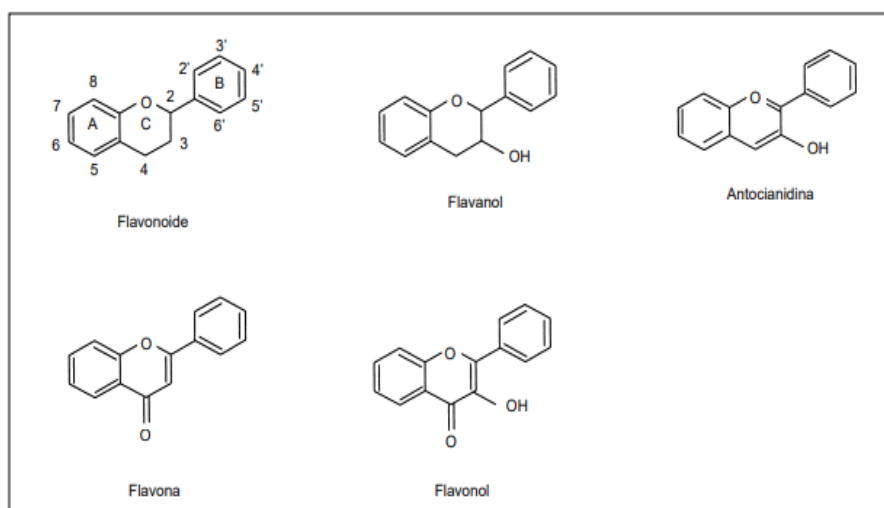
Macheix J., et al. (1990)<sup>22</sup> es el grupo que está constituido en su composición química por un anillo aromático, y los demás están unidos a los grupos hidróxilos, podemos encontrar en otros derivados funcionales tales como los ésteres, glúcidos, etc.

Kuklinski C. (2000)<sup>23</sup> Estos metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos vienen de la ruta del ácido shikímico o ruta del acetato.

1. La ruta del ácido shikímico como los fenoles, ácido fenólicos (benzoicos, cinámicos, etc), cumarinas, lignanos, flavonoides, taninos.
2. La ruta de los acetatos o también conocida como la ruta del ácido mevalónico, tenemos los siguientes derivados fenólicos: antraquinonas y heterósidos antracénicos.

### Flavonoides

Martínez J., et al. (2002)<sup>24</sup> Los flavonoides son compuestos que poseen bajo peso molecular que están constituido por 15 carbonos, por dos anillos de fenilos (A y B) que están ligados por un anillo (C) de pirano. Entre los átomos de carbono en los anillos C y A estos se enumeran de 2 al 8 y en los anillos B se enumeran del 2 al 6.



**Figura 6.** Flavonoides, estructura básica y tipos  
**Fuente:** Nutr. Hosp, 2002

- 1) **Flavonas:** Como la diosmetina, esta posee un grupo carbonilo que se encuentra en la posición del carbono 4 del anillo C y además está ausente en el grupo hidróxilo en posición del carbono 3.
- 2) **Flavonoles:** Estos están compuestos por la quercitina tiene un grupo carbonilo en la posición 4 y también la presencia de un grupo OH en la posición 3 del anillo C.
- 3) **Flavanos:** Como la catequina, se encuentra un grupo OH en posición 3 del anillo C.
- 4) **Antocianidinas:** Estas están unidas por el grupo OH en la posición 3 donde posee un doble enlace entre la posición 3 y 4 de los carbonos del anillo C.

Taiz L., Zeiger E. (2002)<sup>25</sup> Entre otros dos grupos de flavonoides que se encuentran en las plantas, incluidas también en las flores y todas las plantas verdes, tenemos a las flavonas y flavonoles. Tenemos a los flavonoides UV-B dependientes, estos pueden ser absorbidos a una longitud de onda corta de luz solar, estas no son visibles al ojo humano. Cuya función de estas clases de flavonoides es proteger las células de la excesiva radiación UV-B (280 a 320 nm) ya que estas se acumulan en los estratos epidérmicos que posee las hojas y tallos verdes que absorben muy fuertemente la luz en las regiones UV-B y esta permite el paso de la luz visible o también mayores longitudes de onda a las células que son fotosintetizadoras.

## 2.1 Propiedades antioxidantes de los flavonoides

Olsson L., et al. (1998)<sup>26</sup> Dentro del reino vegetal existen dos familias de que han sido de interés farmacológico que son los carotenos y flavonoides. Cuyos compuestos se encuentran alojados en el interior de las células debido a la gran variedad de plantas estas pueden actuar como antioxidantes, es una propiedad de quenchar (apagar) con los radicales libres que son altamente oxidante y tóxicos para las células y siendo el causal de diferentes enfermedades. En cuanto su función que tiene estos radicales libres es oxidar las macrocélulas están absorben los electrones

para que ellos queden estables, poseyendo electrones apareados, en un proceso oxidativo que se constituye mediante una cadena, que es dañino. Tenemos dentro de los radicales libres los hidróxidos, superóxidos y otras especies oxigenadas que son los peróxidos esto están presente en el retiro del oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales entre otros.

## 2.2 Fuentes y rol de los flavonoides

Pacheco D. (2004)<sup>27</sup> Los flavonoides podemos encontrar presentes en las frutas, verduras, semillas y flores, como también en la cerveza, vino, té verde, té negro y soja ya que mayormente estos son consumidos en la dieta humana de forma habitual. También pueden estar presentes de forma de suplementos nutricionales junto en algunas vitaminas y minerales.

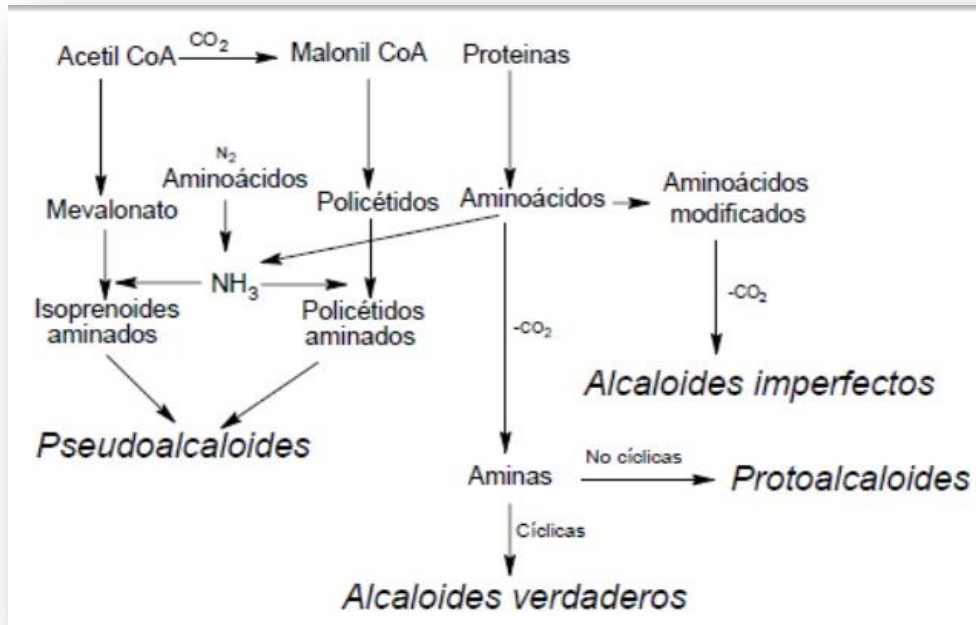
Tereschuk M., et al. (2002)<sup>28</sup> Dentro de la presencia de flavonoides en la naturaleza y sus propiedades beneficiosas para la salud humana han sido de gran interés de estudio por medio de numerosas publicaciones que hay sobre la actividad biológica de estos componentes.

## 3. Alcaloides

Según Arango G. (2008)<sup>29</sup> Son un grupo de compuesto orgánico cíclico que está constituido por nitrógeno (compuesto heterocíclico) en un estado de oxidación negativo cuya distribución es limitada para los seres vivos.

Tipos de alcaloides:

- 1) **Alcaloides verdaderos:** Son los alcaloides que tiene un átomo de nitrógeno formando parte de un anillo heterocíclico, presenta actividad farmacológica y derivan de aminoácidos sintéticamente.
- 2) **Protoalcaloides:** Están conformado por un grupo de aminas simples donde su átomo de nitrógeno no se encuentra en el anillo heterocíclico, son básicos y elaborados por in vitro utilizando aminoácidos.
- 3) **Pseudoalcaloides:** Estos tienen algunas características de los alcaloides verdaderos, que está formado por un anillo heterocíclico en un átomo de nitrógeno, pero no derivan de los aminoácidos como los anteriores.



**Figura 7.** Clasificación de alcaloides y su biosíntesis  
**Fuente:** Pelletier, 1883

### 3.1 Características

Los alcaloides presentan algunas características que son:

- ✓ Productos naturales nitrogenados
- ✓ La mayoría presenta anillos heterocíclicos.
- ✓ Se pueden encontrar en plantas
- ✓ Poseen actividad farmacológica
- ✓ Los alcaloides son metabolitos secundarios que no se encuentran incluidos en el metabolismo primario.
- ✓ Proceden biosintéticamente de aminoácidos

### 3.2 Distribución y Localización

Muchos alcaloides se producen en algunas excepciones que son en las bacterias (*Pyozejanina* en *Pseudomonas aeuruginosa*) también rara vez en los hongos (*Pcylocina* en hongos alucinógenos de genero *Pcilobe*) Viendo también que están presentes en la plantas superiores como las gimnospermas como también en las angiospermas, donde en estas últimas en mayor cantidad. Existen ciertos grupos de familia que tiene una

tendencia a elaborar alcaloides, entre estas familia tenemos a los monocotiledóneas (Amarillidaceas y Lilaceas) en ellas también tenemos a las dicotiledóneas (Papaveráceas, Berberidáceas, Leguminosas, Liláceas, Solanáceas y Rubiáceas, entre otras).

La concentración de los alcaloides puede variar dependiendo la planta, existe en la quitina que sólo se acumula en la corteza y puede estar ausente en las hojas. Entre los alcaloides se pueden destacar en diferentes tipos de tejidos, primariamente en tejidos de activo crecimiento donde después deben ser translocados y acumulados en los tejidos de almacenamiento.

Gracias a sus propiedades medicinales y toxicológicas de los alcaloides se considera un grupo muy importante para realizar estudios de ellos. Los alcaloides que son producidos por diferentes plantas nos han ayuda en la síntesis química de drogas, tenemos la tropicamida es un tipo anticolinérgico que se deriva de la atropina sintéticamente que tiene como actividad farmacológica dilatar las pupilas (Midriaticum) y también ha sido empleado para detectar la enfermedad de Alzheimer.

Muchos alcaloides tiene una estructura compleja y a veces es difícil obtener por síntesis química esto depende de las plantas.

### **3.3 Biosíntesis de los Alcaloides**

Por la gran diversidad estructural que presentan los metabolitos, tenemos en su biosíntesis que no será de forma general, sino que algunos grupos de alcaloides presentan.

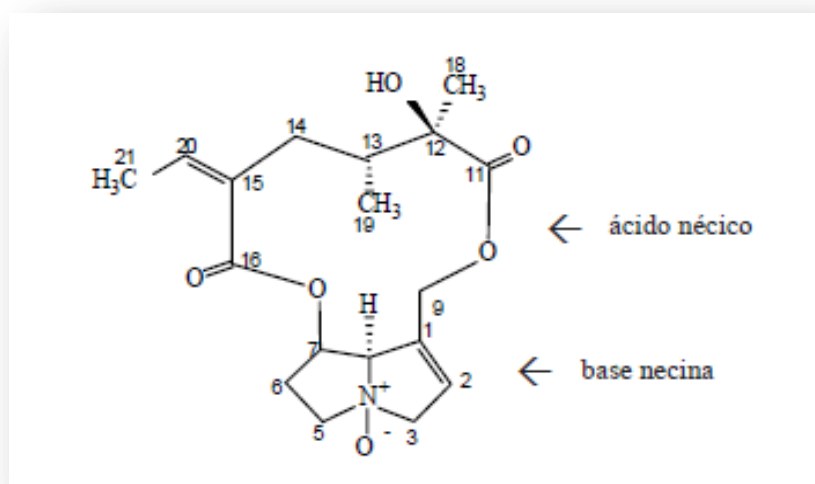
En cuanto en la clasificación de los alcaloides tenemos: según su origen biosintético, que lo presentan los siguientes alcaloides:

Aminoácidos alifáticos como la ornitina y la lisina.

Aminoácidos aromáticos se encuentran el ácido nicotínico, la fenilalanina, la tirosina, el triptófano, el ácido antranílico y la histidina.

Estos aminoácidos que han sido mencionados son las que participan en las bases púricas, unidades terpénicas y derivadas del acetato.

## N-OXIDO SENEACIONINA



**Figura 8.** Unión entre un amino alcohol, necina y ácido necico como resultado a los alcaloides pirrozinicos  
**Fuente:** Mancel M, 2014

Macel M., et al. (2004)<sup>30</sup> La biosíntesis que tienen los alcaloides pirrolizidínicos empieza con las raíces del *Senecio*, allí se produce el metabolito llamado N-oxido senecionina. Siendo llevados a la parte superior de la planta, allí sufrirán cambios en su estructura, como consecuencia se crea puntos de entrada. Villarroel L., et al. (1997)<sup>31</sup> Llega ser tóxico cuando este se metaboliza en el hígado por su forma pirrólico se considera altamente reactivo llamado deidroalcaloide.

Huan J., et al. (1998)<sup>32</sup> El efecto hepatotóxico que tienen los alcaloides, es por la activación de los metabolitos que actúan como agentes alquilantes, esto ya está comprobado. Primero se va a producir la oxidación (conocida como deshidrogenación) que se encuentra en el carbono  $\alpha$  N, que es catalizada por las enzimas las monooxigenasas del citocromo P-450.

Parkash A., et al. (1999)<sup>33</sup> Dentro de sus derivados pirrólicos son reactivos y pueden sufrir una conversión espontánea, permitiendo que esto origine agentes electrofílicos, reaccionando con las sustancias celulares con un carácter nucleofílico mediante la adición de Michael. El glutatión es reducido tras presentarse un carácter nucleofílico y, al poseer esta característica, esto protege al organismo ya que gracias a la captura



de los derivados pirrólicos tóxicos, a esta ruta se le conoce como la detoxificación que es utilizada por el organismo. Tenemos el caso que las células nucleófilas, en las cuales se encuentran los ácidos nucleicos y proteínas vitales que cuando reaccionan con los derivados del pirrol forman aductos.

Huan J., et al. (1998)<sup>32</sup> Esto hace que haya una alteración en las estructuras de las moléculas vitales llevando así a la alteración en su función, esto explica las diversas manifestaciones patológicas que son producidas por el alcaloide pirrolizidínico. Puede presentarse susceptibilidad en algunas especies de animales que tiene los alcaloides pirrolizidínicos, debido al tipo de metabolismo enzimático que pueden presentarse en microsoma hepático. Esto se da por la producción que tiene el núcleo pirrol que es consecuencia de una conjugación que puede ser bajas y también altas tasas con el glutatión puede ser que sea una de las razones a la resistencia aumentada que están presentes en las ovejas y hámsteres debido a la toxicidad que tiene estos alcaloides. Chojkier M. (2003)<sup>34</sup> Por la ingestión crónica de plantas que puedan contener algunos puntos de acceso que presentaron algunos animales del laboratorio donde desarrollaron cáncer y en la adición que tienen estos metabolitos de algunos puntos de entrada se comprobó la actividad mutagénica in vitro.

Parkash A., et al. (1999)<sup>33</sup> Pese a eso no se encontró ninguna relación entre la exposición de los seres humanos a los alcaloides pirrolizidínicos y tampoco en el desarrollo de cáncer. Tras unas series de análisis de informes que fueron publicados sobre este tema la exposición de seres humanos a los puntos de entrada tomaron Parkash. Y algunos colaboradores llegaron a la conclusión que estos tipos de compuestos no son carcinógenos humanos; pero en cuanto su exposición con algunas sustancias esto puede traer como consecuencia enfermedades como veno-oclusivas y la cirrosis infantil que muchas veces han sido causantes de la muerte.

### **3.4 Funciones de los Alcaloides**

Arango G. (2008)<sup>29</sup> Los alcaloides la función principal es la defensa química de la planta contra los diferentes ataques que podría recibir la planta.

También se pueden decir que sirven de desecho o almacenamiento del nitrógeno sobrante, esta función es equivalente a la del ácido úrico.

Los alcaloides son asociados como ácidos orgánicos que facilitan el transporte de la planta, donde pueden servir como productos de almacenamiento del nitrógeno que no ha sido metabolizado o para el transporte del mismo. Como ejemplo tenemos a la familia de las *Solanáceas* midriáticas, la presencia de los ésteres del tropano se forman de las raíces y son transportados a las áreas donde serán hidrolizados.

Los alcaloides pueden servir en algunos casos como reguladores del crecimiento, tenemos a putrescina que esta se encuentra en los suelos con deficiencia de potasio.

### **3.5 Extracción de los Alcaloides**

La extracción de los alcaloides se da por su carácter básico y por la existencia de las plantas tales como sales de ácidos orgánicos o como combinaciones solubles.

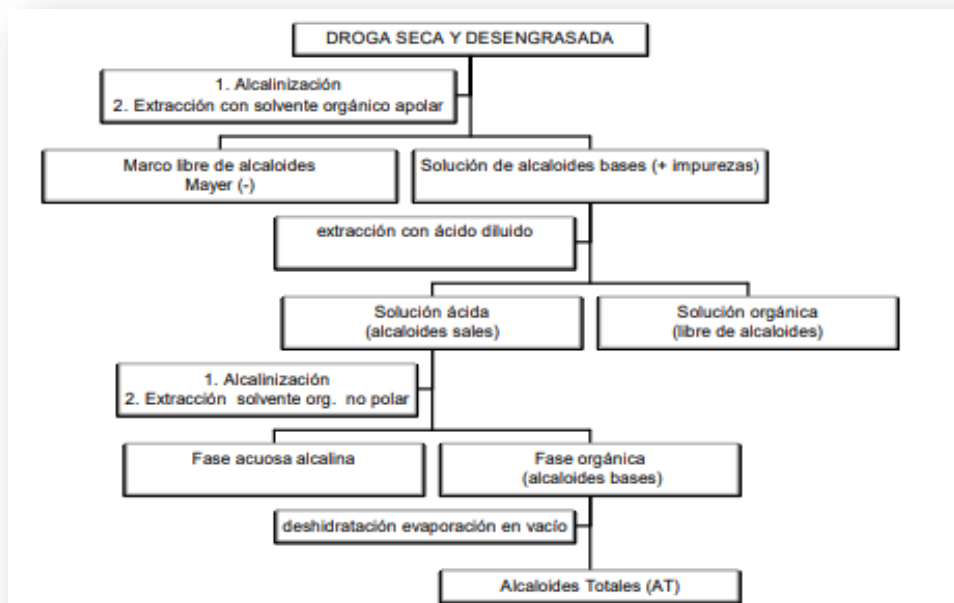
#### **3.5.1 Preparación de la materia vegetal**

Se utiliza distintas partes de la planta como las raíces, las hojas, semillas, corteza o flores que han sido seleccionados con base a diferentes resultados de las reacciones de precipitación, primero se hace el secado en la estufa donde la temperatura debe ser menor de 50° C, después se pulveriza la muestra, para finalmente ser desengrasado en el equipo de soxhlet con la ayuda de un solvente orgánico apolar.

Tenemos dos tipos de extracción: La primera es la extracción en medio alcalino (por un solvente orgánico) y la segunda es la extracción por medio ácido (agua, alcohol o solución hidroalcohólica).

### 3.5.2 Extracción por un solvente orgánico en medio alcalino:

- a) La droga que está pulverizada y desengrasada cuando se mezcla con una solución alcalina se desplazan los alcaloides de sus combinaciones salinas (se pesó aproximadamente 1 kg de droga en un litro de solución de hidróxido de amonio al 5 % por 4 horas) luego de ser liberada las bases son solubilizadas con un solvente orgánico.
- b) El solvente orgánico que se empleó para la extracción de alcaloides bases es separado y es concentrado a una presión reducida, procediendo a la agitación con una solución acuosa ácida, teniendo a los alcaloides solubilizados en forma de sales, mientras en otros extractos se encuentran como pigmentos, esteroides u otras impurezas que se pueden encontrar en la fase orgánica.
- c) Las soluciones acuosas que están presentes como sales de alcaloides serán nuevamente alcalinizadas y son extraídas con un solvente orgánico no miscible; este solvente orgánico es deshidratado sobre la sal anhidra, filtrado y además es concentrado a presión reducida, finalmente el residuo que queda son los alcaloides totales (A.T).



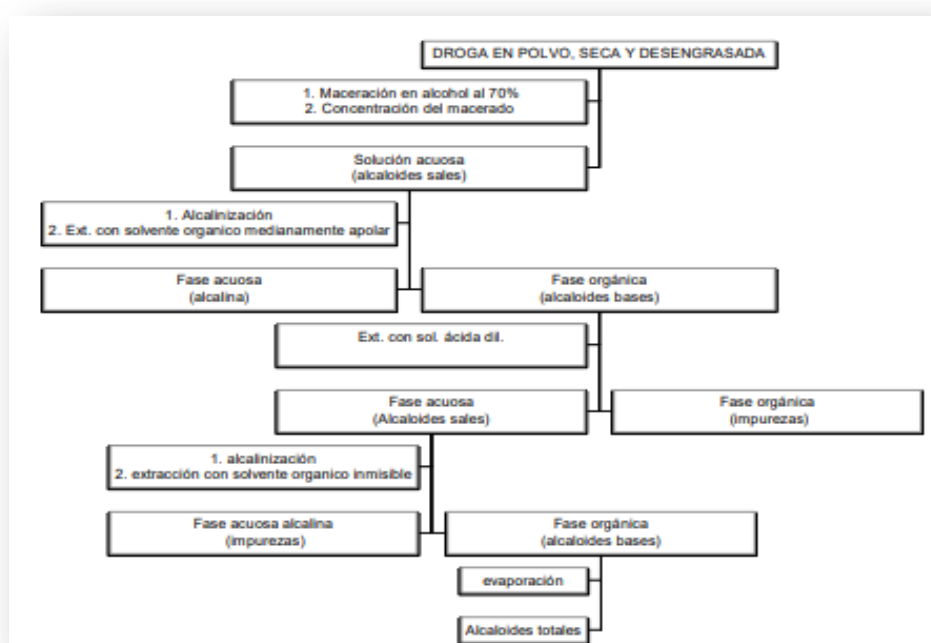
**Figura 9.** Extracción de los alcaloides en medio alcalino  
**Fuente:** Gabriel, J. - 2008

### 3.5.3 Extracción de alcaloides en medio ácido:

La droga una vez seca, se pulveriza y desengrasada se puede extraer con agua acidulada o alcohol o una solución hidroalcohólica acidulada, se encuentran en forma de sales los extractos de los alcaloides.

Los extractos pueden presentarse de diferentes formas:

- Mediante una alcalinización y extracción de los alcaloides base con la ayuda de un solvente orgánico no miscible.
- La fijación de los alcaloides que se dan sobre las resinas intercambiadoras de iones para después separarlas por elución mediante ácidos fuertes.
- Viendo que la precipitación de los alcaloides en forma de yoduromercuriatos tras a ver utilizado el reactivo de Mayer concentrado; luego se forma un complejo que se recupera a través de la filtración o centrifugación, se procede a re disolverla mezcla de agua-alcohol-acetona y finalmente se separan haciendo les pasar por las resinas intercambiadoras de iones (esta técnica se utiliza para alcaloides amonio cuaternarios).



**Figura 10.** Extracción de los alcaloides en un medio débilmente ácido  
**Fuente:** Gabriel, J - 2008

## 4. Triterpenos y Esteroides

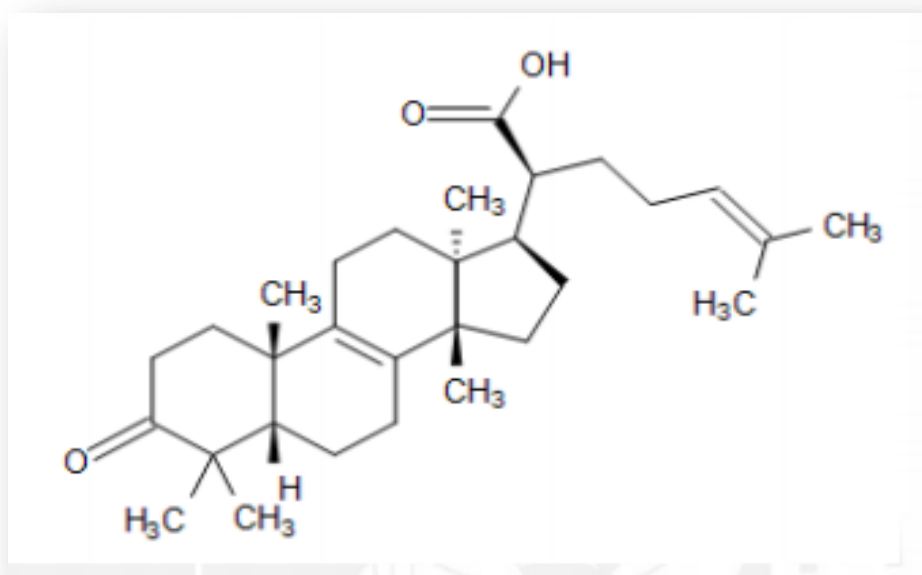
Estrada A., et al. (2000)<sup>35</sup> En este grupo de principios activos que están constituidos por diferentes compuestos, su estructura es similar, derivan del epoxiescualeno o menor número del escualeno.

### 4.1 Composición química

Dentro de ellos tenemos un hidróxilo que está presente en el carbono 3 permitiendo la unión con una o varias moléculas glúcidas, como resultado se forman estructuras heterosídicas.

Existen dos tipos de grupo según su estructura química: triterpenos (tetra y pentacíclicos) y esteroides.

Dentro de los grupos compuestos tenemos de interés farmacéutico a los saponósidos y heterósidos cardiotónicos.



**Figura 11.** Estructura del triterpeno ácido  $\beta$ - elemónico  
**Fuente:** Soares - 2005

## 4.2 Saponósidos

También conocidas como saponinas que poseen propiedades tensoactivas, donde se tiene que disolver con agua y por medio de la agitación forman como tipo de espuma persistente, tienen propiedades detergentes. Tenemos que muchas de ella también poseen propiedades hemolíticas alterando la permeabilidad de las membranas biológicas y como resultando tóxicas para los animales de sangre fría.

Estos dos compuestos que han sido mencionados son de interés farmacéuticos. Una es por su actividad farmacológica, que gracias a esta propiedad nos puede ayudar a la aplicación directa a la terapéutica y por medio de obtención de fármacos por semisíntesis química (como por ejemplo tenemos el caso de los saponosidos esteroidicos de diversas especies del genero *Discorea* que se utiliza para la obtención de anticonceptivos orales) además también pueden ser empleados en las farmacotécnicas debido a sus propiedades físicas (tensoactividad).

Los compuestos tiene una estructura heterosídicas. Y es debido a la unión al azúcar que se realiza con un hidróxilo del C3 (monodesmosidos) presentándose en algunos casos la esterificación adicional como otras moléculas glucídicas mediante un grupo ácido situado sobre el C 28 (biodesmosidos).

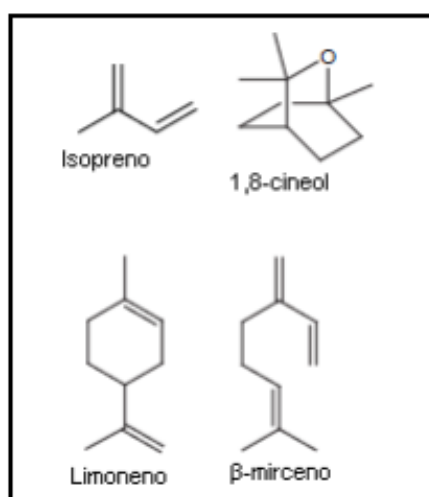
Las geninas se clasifican por sus dos tipos estructurales: esteroídicos y triterpénicas. Las saponinas con genina esteroídica, son hexacíclicas y están compuesto por 27 átomos de carbono (espirostano), estas se pueden encontrar en las plantas como las Monocotiledóneas (Dioscoreáceas, Liliáceas, Agaváceas) en cambio en el tipo de triterpénico están constituido por 30 átomos de carbono, tetracíclicas (dammarano) o pentacíclicas (lupanos, ursanos) están presentes en las plantas Dicotiledóneas, Pteridofitas y también en algunos animales marinos.

Teniendo como efectos farmacológicos inducen a la capacidad para permeabilizar membranas biológicas (actividad hemolítica). Han sido utilizados como antitusivos y expectorante, antiinflamatorios, analgésicos, venotónicos y antihemorroidales.

### 4.3 Categorías de Terpenos

Wallach O. (1887)<sup>36</sup> Dentro de las categorías de los terpenos existen: hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpeno y politerpenos.

Estos grupos pueden subdividir esto a su vez posee caracteres estructurales o también según la importancia que tiene los grupos funcionales. De esta manera se podría lograr diferenciar, como tenemos a los monoterpenos, entre regulares, irregulares, acíclicos, monocíclicos y también tenemos bicíclicos.



**Figura 12.** Estructura química de los terpenos  
**Fuente:** Wallach, O - 1887

### 4.4 Características generales de los Terpenos

Palá J. (2002)<sup>37</sup> Tiene como unidades estructurales los terpenoides es el isopreno, que está constituido por cinco átomos de carbono. En cuanto a su unión continúa que da como consecuencia a distintos tipos de terpenos. Se le conoce como hemiterpenos a los que poseen un solo isopreno en su estructura (C5), a los que poseen dos isoprenos se le conoce como monoterpenos (C10), a los que poseen tres isoprenos en su estructura se le conoce como sesquiterpenos (C15) y así continúa.

Teniendo cuenta el origen de los enlaces esto lleva a la formación de compuestos que poseen diez o más átomos de carbono en su estructura, los grupos presentes en esta clasificación son los terpenos regulares e irregulares.

En el grupo de los regulares estos provienen de isoprenos que están unidos de forma regular “cabeza-cola”, estos se pueden diferenciar en compuestos resultantes. Como ejemplo tenemos a los monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos que son de este tipo.

En el grupo de los irregulares estos son menos comunes, ya que se caracteriza por tener un grupo monoterpenos estos no se pueden diferenciar las unidades de isopreno ya que proviene de una unión “cabeza-mitad”.

### 2.2.1.8 Propiedades

Rainer W., Douglas S. (2015)<sup>38</sup> Gran variedad de plantas andinas presentan principios activos, aquellos metabolitos secundarios que inhiben el crecimiento de bacterias, tal como es el caso de *Senecio rhizomatus* que posee actividad antibacteriana sobre los Gram positivos, el *Senecio calvus*, *Senecio comosus*, posee actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*.

Assem S., et al. (2002)<sup>39</sup> En un estudio el *Senecio aegyptius* presentó actividad antibacteriana sobre *Basillus subtilis*, Zellaoui A., et al. (2012)<sup>40</sup> así como actividad antifúngica sobre *Candida albicans*. *Senecio delphinifolius* inhibió *Escherichia coli* y con una moderada inhibición en *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.*, Bhakuni D., et al. (1974)<sup>41</sup>. *Senecio calvus* y *Senecio comosus* resultó con actividad sobre *Staphylococcus aureus* así como también se reporta para *Senecio chilensis*, *Senecio otites* y *Senecio tephrosioides*.

Deuschle R., et al. (2006)<sup>42</sup> Se reportaron resultados por Deuschle R. Informando que *Senecio desiderabilis* Vellozo presenta actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*.

Steenkamp V., et al. (2001)<sup>43</sup> El *Senecio sublutescens* cuatrecasas a pesar de no presentar reportes textuales, según estudios farmacológicos con especies del mismo género indica que posee actividad antimicrobiana y antifúngica.



### 2.2.2 Extracto Etanólico

González A. (2004)<sup>44</sup> Un extracto etanólico cuenta con un olor característico, que es obtenido a partir de la materia prima desecada de origen vegetal, realizado por dos métodos por maceración o percolación en etanol, después sigue la eliminación del solvente por un procedimiento físico.

#### A) Uso del etanol como combustible en Brasil

Moreira L. (2008)<sup>45</sup> En los años 70 se presentó en el panorama energético mundial mostrando signos de alarma y donde se hizo necesaria la reducción de la dependencia del petróleo importado, con la investigación en aceites vegetales ganó un nuevo impulso.

#### B) Uso del etanol como combustible en Estados Unidos

Landa J. (2008)<sup>46</sup> Durante el cambio del gobierno de Estados Unidos, esto se fundamenta por el estancamiento y atraso social contra un crecimiento económico, también tenemos el desarrollo tecnológico que se ha ampliado de gran manera, por lo que su objetivo es centrarse en la contribución de los avances tecnológicos donde se puede observar el cambio de hábitos de consumo y entre los cambios culturales, esto no está presente solo en los Estados Unidos sino también a nivel mundial.

#### C) Uso del etanol anhidro como combustible en América Latina

Tobón J. (2007)<sup>47</sup> Entre los países de América Latina tenemos Colombia ya que es un país de gran producción de dos materias primas ya que es de enorme peso para la producción de biocombustible tales como el azúcar y el aceite de palma. Ya que por medio de estos productos, se abre la posibilidad a generar nuevos empleos y la activación económica.

Según la empresa Rams-Martinez S.L. (T3 Química) (2007)<sup>48</sup> estos son los peligros que puede tener:

- Peligros para las personas: al tener contacto con la piel puede producir sequedad de la piel, en contacto con ojos produce enrojecimiento, dolor y quemazón. Por inhalación produce tos, somnolencia y dolor en la garganta. Por ingestión puede producir náuseas y dolor abdominal.
- Peligros en el medio ambiente: el un solventes altamente inflamable, mezclas de vapor y aire son explosivas.

#### D) Primeros auxilios:

- Por ingestión: se enjuagar la boca. En caso que el paciente está consciente se da de beber agua o leche que se desee. En cambio si el paciente está inconsciente no provocar el vómito y solo mantenerlo en posición lateral.
- Por inhalación: se lleva al paciente a un lugar ventilado. Que este en reposo y mantener abrigado. En caso de insuficiencia respiratoria se puede aplicar la respiración artificial. Finalmente solicitar atención medica de inmediato.
- Contacto la piel: se procede a quitar la ropa que está contaminada con el solvente. Lavar con abundante agua la zona que ha sido afectada. En caso que haya irritación consultar al médico.
- Contacto con los ojos: Rápidamente enjuagarse con abundante agua durante unos 15 minutos aproximadamente, teniendo los parpados abiertos. Consultar con el oftalmólogo si hay irritación.

#### E) Manipulación y Almacenamiento

- Manipulación: En cuanto su manipulación evitar la formación de polvo. No fumar, comer o beber cuando se manipula. Supervisar la higiene de la persona después de su manipulación.
- Almacenamiento: mantener en un recipiente cerrado apartado de la humedad y el calor.

## F) Estabilidad y Reactividad

- Estabilidad: Es estable con se mantiene en condiciones normales en el almacenamiento.
- Reactividad: Puede reaccionar violentamente con oxidantes que son fuertes como son el ácido nítrico o perclorato magnésico, provocando peligro de incendio y explosión.

## G) Extracción principios Activos Vegetales

Bruneton J. (2001)<sup>49</sup> Tenemos procesos extractivos de los diferentes fotoquímicos, aceites esenciales, etc. Se puede destacar en las nuevas tecnologías de extracción en la cual encontramos la extracción en fluidos supercríticos.

A menudo se utilizan los procesos extractivos más convencionales en los cuales son: arrastre de vapor, los de extracción por solución y por extracción por centrifugación.

### 2.2.3 Métodos de Extracción

#### 2.2.3.1 Extracción Fluidos Supercríticos

Se basa en la extracción de fluidos supercríticos son sustancias, mezcla o elemento que se da bajo mediante operaciones mecánicas, que debe contar con condiciones operativas como la presión y temperatura. Esto se sitúa por encima del punto crítico que cuenta, pero por debajo de la presión donde se condensa en un sólido.

Características de un fluido supercrítico son:

- Posee un poder disolvente y cuenta con una capacidad de penetración en sólidos, se agota muy rápido de los sólidos que han sido extraídos.
- Se pueden separar por completo y es más sencilla en los extractos, modificando la presión o la temperatura hasta llegar al extremo, si fuera necesario el fluido pasa por un estado gaseoso.

### **2.2.3.2 Extracción sólido-líquido**

Teniendo la muestra sólida se pulveriza y después se extrae los analitos utilizando un disolvente en el que sean muy solubles, su diferencia con las sustancias de la matriz tienen que ser insolubles en este disolvente. Se puede hacer con agitación, temperatura o ultrasonidos ya que tiene mayor eficacia. Y se somete a la centrifugación después de la extracción para eliminar los sólidos restantes.

### **2.2.3.3 Extracción líquido-líquido**

Esta técnica se trata de extraer los analitos de una muestra líquida por medio de un disolvente inmiscible, presentando una fase acuosa con un disolvente que sea orgánico no miscible.

### **2.2.3.4 Extracción por centrifugación**

Se obtiene extractos y aceites por medio de este proceso que cuentan con características aromáticas superiores que son por extracción por arrastre de vapor.

### **2.2.3.5 Extracción en fase sólida**

En este procedimiento se emplean columnas o cartuchos que tienen la capacidad de retener el analito, donde se extrae posteriormente de un determinado volumen de un disolvente.

### **2.2.3.6 Maceración**

Este tipo de extracción se realiza a temperatura de ambiente. Primero se remoja el material vegetal en un determinado solvente (agua, etanol se prefiere el etanol debido a los largos tiempos de extracción en cambio el agua puede que haya fermentación o formación de mohos) hasta que este solvente penetra y se disuelva en porciones solubles. Se puede realizar en cualquier recipiente con tapa que no sea atacado por un disolvente; en este recipiente se coloca la materia vegetal con el disolvente y tapanlo y dejarlo en reposo a próximamente por un periodo de 2 a 14 días con una agitación constante. Luego después se filtra el líquido, posterior se

exprime el residuo, donde se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y finalmente se obtiene el extracto.

### 2.2.3.7 Percolación

Es un proceso más difundido que se realiza utilizando disolventes orgánicos en frío para que se preserve los compuestos termolábiles que se pueden encontrar en material vegetal. Esto consiste en poner el material fragmentado en un embudo y por medio de un disolvente adecuado se hace pasar. Este método no es apropiado para las resinas o materiales ya que al hincharse el disolvente no percolará. Se requiere de agregar el solvente constantemente en el proceso.

### 2.2.4 Marcha Fitoquímica

Según Miranda M., Cuellar A. (2002)<sup>50</sup>, es una prueba química cualitativa que se realiza para la identificación de los metabolitos presentes en los extractos.

**TABLA 1. Reconocimiento fitoquímico de tipos de metabolitos**

Reactivo	Identificación	Interpretación
Reactivo. Gelatina 1%	Taninos	Precipitado blanco
Reactivo. Dragendorff Reactivo Mayer Reactivo Wagner	Alcaloides	Rojo a naranja Precipitado blanco lechoso Precipitado marrón
Reactivo Tricloruro férico	Compuestos fenólicos	Colores intensos: azul, verde
Reactivo Borntrager	Quinonas	Color marron amarillento
Reactivo Shinoda	Flavonoides	Tonos rojos, coloración carmelita.
Lieberman-Burchard	Esteroides	Verde azulado
Reactivo Nihidrina	Aminoácidos	Azul violáceo
Reactivo Molisch	Carbohidratos	Presencia de un aro
Felhing	Azúcares reductores	Precipitado rojo ladrillo

Fuente: Junior M. Investigación fitoquímica (2017)

## **2.2.5 Hongos**

Putzke J., Putzke M. (1998)<sup>51</sup> Los hongos presentan una serie de características convirtiéndoles en indispensable para los ecosistemas. Estos microorganismos están presentes en diferentes ambientes como también se pueden localizarse en todos los sustratos, es indispensable que exista la disponibilidad de nutrientes y teniendo en cuenta sus condiciones favorables para su supervivencia.

### **2.2.5.1 Nutrición y metabolismo**

Molinario E., et al. (2009)<sup>52</sup> Los hongos son herótrofos, saprofitos o también se le conoce como parásitos ya que necesitan de materia orgánica para poder obtener energía y constituyentes celulares. Cuenta con enzimas que son utilizadas para la degradación de la materia orgánica, ya que puede descomponer los complejos de compuestos orgánicos que están presentes en moléculas simples donde puede ser absorbido debido a paredes celulares. Esto se debe a que necesitan sustancias que sean elaboradas, por esto se les ve la obligación de vivir en relaciones de saprofitismo, parasitismo, etc.

### **2.2.5.2 Características**

Pereira E., et al. (2009)<sup>53</sup> Los hongos cumplen un papel importante ecológicamente ya que son capaces de degradar todo tipo de restos orgánicos, independientemente de su origen y transformando en elementos de asimilación para las plantas; en el aspecto económico tenemos las siguientes áreas como: medicina humana, farmacia, nutrición, fitopatología, agricultura y biotecnología; muchos son patógenos para algunos seres vivos por su producción de toxinas y pueden tener el poder para atacar a insectos también se puede generar las relaciones simbióticas.

## 2.2.6 *Candida albicans*

Pardi G. (2002)<sup>54</sup> Género *Candida* existen más de 150 especies, cuya principal característica es no poseer una forma sexual, pero se pueden hacer excepción de algunas especies micóticas. Dentro de su clasificación están las levaduras, las cuales se representan a los hongos en su modo crecimiento.

### 2.2.6.1 Características

Según el USP 38., et al. (2015)<sup>55</sup> se puede subcultivar en una placa que contenga Agar Sabouraud y su tiempo de incubación tiene que ser a una temperatura de 30° a 35° en un periodo de 24 a 48 horas. Para interpretar los resultados se observa un crecimiento de colonias blancas que afirman la presencia de *C. albicans*. También se puede saber mediante las pruebas de identificación.

Liébana J. (2002)<sup>56</sup> *Candida albicans* en su forma es una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras, grampositivas, posee una pared fina; cuando hay presencia de tejidos infectados su forma es filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, son células alargadas de levadura que están unidas entre sí.



**Figura 13.** Aspecto macroscópico de las colonias de *Candida* spp  
**Fuente:** Koneman - 1987

Pontón J., et al. (2002)<sup>57</sup> *Candida albicans* es un hongo dimórfico su desarrollo es de manera diferente debido a la función de la temperatura de crecimiento que posee ya que al ser una levadura, su temperatura es de 37°C en el huésped, y al ser un hongo filamentoso, su temperatura en la naturaleza a 25° C.

Pertenece al filo Ascomycota y su reproducción es asexual. Utilizan un mecanismo de defensa relacionados con la inmunidad celular del huésped se le conoce como dimorfismo. En forma de levadura se presenta como saprofita, conviviendo en simbiosis con el huésped y en forma de hongo filamentoso, se comporta como un parásito patógeno lo que produce síntomas en el huésped. Se puede observar en el Agar Sabouraud que crece formando colonias blancas, blandas, cremosas y lisas.

#### **2.2.6.2 Propiedades**

La composición química de *C. albicans* está representada por 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacáridos, mientras que la proporción de lípidos es variable. La fracción lipídica va a depender de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y del origen de la fuente de carbono. La pared celular de *C. albicans* está compuesta principalmente por los polisacáridos Manano, Glucano y Quitina. Aunque la síntesis de los componentes de la pared celular está dinámicamente influenciada por las condiciones de crecimiento y por los estadios metabólicos.

#### **2.2.6.3 Viabilidad, propagación y transmisión**

Reservorio

El reservorio es en los seres humanos (pueden estar presentes en la microflora de la piel, la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal también el sistema genitourinario, etc).



#### **2.2.6.4 Supervivencia ambiental**

Al estar fuera del huésped pueden vivir en zonas húmedas y también en zonas de poca luz.

#### **2.2.6.5 Mecanismo de propagación y transmisión**

Tenemos en cuanto a su mecanismo de propagación y transmisión puede ser por transmisión endógenas que puede ser causada por el contacto a través de la piel, también se pueden encontrar en las mucosas o en algunos casos las mordeduras. Siendo responsable de la enfermedad nosocomial.

#### **2.2.6.6 Vía de entrada**

Dérmica. Mucosa. Parenteral.

#### **2.2.6.7 Infección**

Candidiasis o moniliasis: dentro de la infección superficial que puede presentarse principalmente en las personas inmunodeficientes lo que va afectando a su piel (intertrigo) en las mucosas (oral, genitourinaria) y a las uñas (paroniquia o perionixis). También pueden aparecer síntomas un poco leves como: enrojecimiento en algunos casos, en otros la picazón y malestar. Pero para las personas que sufren del cáncer, trasplantados o con SIDA la infección se puede presentar de forma sistémica (candidemia), y puede llegar a ser fatal.

#### **2.2.6.8 Efectos alérgicos**

- 1) A (Alérgico)** La asociación entre *Candida albicans* y alergia es discutido a excepción de los cuadros alérgicos que pueden presentarse con poca frecuencia observándose en pacientes con colonización o infección cutáneo-mucosa. Existen pruebas de reactividad cutánea utilizando extractos de *Candida albicans* dieron como resultado positivo en un determinado grupo de personas y con las pruebas de provocación bronquial se pudo observar reactividad clínica que se presentaron en algunos pacientes.

## 2) Efectos en la maternidad

**2.1 Candidiasis cutánea congénita (CCC)** Es un tipo de infección intrauterina congénita que se presenta muy poco. Lamentablemente se adquiere por la vía ascendente que tiene el tracto genital de la mujer embarazada y se puede presentar de manera sistémica o cutánea que se observan en los seis primeros días de vida. La candidiasis cutánea neonatal es un tipo de infección que se adquiere durante el parto por que pasa por el canal de parto; que lleva a la candidiasis oral y también a la dermatitis del pañal en algunos casos.

### 2.2.6.9 Prevención y control

#### ▫ Desinfectantes

Hipoclorito sódico al 1%, glutaraldehído al 2%, formaldehído; moderadamente sensible a etanol al 70%.

#### ▫ Inactivación física

Su inactivación física se presenta a través del calor húmedo que llega a una temperatura de 121°C que puede durar como 15 minutos.

#### ▫ Antimicrobianos

Anfotericina B, ketoconazol, fluconazol, nistatina y clotrimazol.

### 2.2.6.10 Patogenia

#### ▫ Candidiasis

Palacio A., et al. (2009)<sup>58</sup> La candidiasis es una infección primaria o secundaria, cuyo causante son las levaduras del género *Candida*, suele manifestarse clínicamente extremadamente variables desde una evolución aguda, subaguda, crónica, episódica, este hongo puede causar lesiones cutáneas, muco cutáneas, profundo o diseminadas.

Conocida como una infección cosmopolita. Esta es una de las infecciones más frecuentes en seres humanos. Desde los últimos

20 años ha ido aumentando en gran manera. Donde se puede decir que las levaduras son causantes del 7,45% de la micosis, el 25 % micosis superficiales y en el 75 y 88% de las infecciones fúngicas nosocomiales. Puede afectar a cualquier edad, sexo o perteneciente de un grupo étnico.

## **2.2.7 *Aspergillus brasiliensis***

Martin S., et al. (2013)<sup>59</sup> El género *Aspergillus* descubierto se observó que la cabeza conidial de este hongo se parecía a un “aspergillum” (instrumento utilizado para dispensar agua bendita). Es un hongo filamentoso hialino ubicuo, causante de diversas enfermedades por su universalidad que pueden presentarse en forma de brotes hospitalarios por las obras de remodelación.

### **2.2.7.1 Características**

Brochard G., Le Bâcle C. (2009)<sup>60</sup> Son hongos filamentosos hialinos, saprofito, perteneciente al filo Ascomycota. En su morfología están presentes las hifas hialinas septadas, también puede ser su reproducción sexual (con formación de ascosporas en el interior de ascas) y asexual (con formación de conidios). Se diferencian las demás especies en el tamaño, tasa de crecimiento, textura (aterciopelada, granular, algodonosa) y color de la colonia verde-amarillento (*A.flavus*), negro (*A. niger*), etc. La presencia de la coloración de las diferentes especies casi siempre se observa en las estructuras aéreas, tanto en el micelo como en las cabezas conidiales.

Quinn P., et al. (2011)<sup>61</sup> En la mayoría se pueden encontrar en el suelo y en materia orgánica que está en descomposición. Principalmente están presentes en el aire y también muchas veces en el polvo.

### **2.2.7.2 Mecanismo de Acción de los *Aspergillus***

McVey D., et al. (2013)<sup>62</sup> El mecanismo de acción empieza cuando este almacena sus esporas en el huésped, produciendo así una respuesta de inflamación de parte de las células fagocíticas, permitiendo la liberación de proteasas, tenemos también a las fosfolipasas y por último a las elastasas fúngicas que estos en grupo son los principales autores del daño del tejido.

Markey B., et al. (2013)<sup>63</sup> También tenemos en casos de las infecciones pulmonares, que han sido por la inhalación de las esporas que son causante de la formación de exudados que estos terminan por retenerse en los bronquiolos. En caso que la infección es muy fuerte, estos como consecuencia pueden avanzar hasta los vasos sanguíneos, produciéndose una inflamación a nivel vascular y también una posible formación de trombos que pueden esparcirse a diferentes partes del cuerpo.

### **2.2.7.3 Supervivencia ambiental**

Brochard G., Le Bâcle C. (2009)<sup>60</sup> En cuanto su crecimiento crece en todo tipo de sustrato, en los suelos y también materiales que están en descomposición. Se le conoce como contaminante para la naturaleza.

Es resistente a temperatura de 12°C y hasta los 57°C.

### **2.2.7.4 Forma de resistencia**

Mediante las esporas puede mantenerse a 70° C.

### **2.2.7.5 Mecanismo de propagación y transmisión**

La transmisión se produce por medio de las esporas o conidios que están presentes cualquier ambiente que muchas veces están de forma bioaerosoles y de esa manera pueden introducir en el organismo mediante la vía respiratoria. Otra forma de transmisión por contaminación de heridas o mucosas y la aparición de efectos tóxicos puede también por el consumo de alimentos contaminados. Son responsables de casos de enfermedad nosocomial. No se produce transmisión de persona a persona.

### **2.2.7.6 Vías de entrada**

Respiratoria. Mucosa. Parenteral. Digestiva.

### **2.2.7.7 Infección**

Es un patógeno que puede causar infecciones tanto como locales y superficiales tenemos a la micosis entre ellas están presentes

(otomicosis, queratosis, entre otros) y también el aspergiloma se presenta cuando hay una lesión en los pulmones, debido a una enfermedad pulmonar. En los pacientes inmunodeficientes el *A. flavus* y *A. terreus* pueden llegar a generar infecciones que pueden ser invasivas, tenemos a la aspergilosis invasiva diseminada, que se presenta de forma grave juntamente con la neumonía, por lo tanto el pulmón va ser afectado y también se puede presentar en otros órganos.

#### **2.2.7.8 Efectos alérgicos**

**A (Allergen)** En cuanto las alergias tenemos al asma, rinitis y alveolitis alérgica extrínseca o neumonitis por hipersensibilidad, muchas veces enfermedades pulmonares debido a contacto con los conidios que están presentes en el hongo, es muy recurrente que se presente en trabajos pulvígenos: tenemos mediante a la manipulación del heno mohoso (*A. flavus*), en la cebolla enmohecida (*A. clavatus*), entre otros.

#### **2.2.7.9 Efectos tóxicos**

Los efectos tóxicos también pueden estar presentes las intoxicaciones alimentarias, como consecuencia de consumir alimentos que pueden estar contaminados con micotoxinas y también pueden estar presentes metabolitos extracelulares.

#### **2.2.7.10 Efectos cancerígenos**

El efecto cancerígeno generalmente se produce por la vía digestiva ya que no se ha demostrado por otras vías.

#### **2.2.7.11 Prevención y control**

- **Desinfectantes**

Hipoclorito sódico y sulfato de cobre. *A. niger* también es sensible al glutaraldehído al 0,5%.

▫ **Inactivación físicas**

La irradiación podemos observar que con microondas a 800 vatios de 90 segundos por unos 2 minutos puede ser eficaz para la inactivación de los conidios del *A. flavus*.

También el tratamiento a 60° C por 45 minutos produce la inactivación los conidios del *A. niger* y también en el *A. flavus*.

▫ **Antimicrobianos**

Voriconazol y anfotericina B.

Quinn P., et al. (2015)<sup>64</sup> Esta especie de *Aspergillus brasiliensis* se describe como un hongo saprofito, que mayormente se encuentra relacionado a diferentes patologías que se presentan en los animales. Tenemos como por ejemplo al ganado bovino, esto trae otitis, aspergilosis nasal entre otras.

Meijer M. (2011)<sup>65</sup> Pese a que no existen muchos estudios de los efectos del pH y la Aw significa (la tolerancia que tiene a bajas actividades con el agua) en cuanto su crecimiento que tiene este hongo, se puede afirmar que crece a una temperatura de 15° C y su temperatura óptima para su desarrollo completo es de 35° C.

### **2.2.7.12 Patogenia**

Palanisamy M., et al. (2010)<sup>66</sup> En cuanto a las infecciones humanas originadas por esta especie de *Aspergillus brasiliensis* no han sido compartidas. Pero se presentaron dos casos conocidos como la queratosis fúngica causada por esta especie.

Donde se encontró dos cepas de *A. brasiliensis* que fueron estudiadas en seis aislamientos de queratitis de la sección *Nigri* de esta especie, ya que al ser una especie recientemente estudiada se encontró que puede ser consecuente de una proporción indicativa de las infecciones corneales que son mayormente causadas por el *A. brasiliensis*.

El primer caso fue de una mujer de la India de 49 años que acudió al médico por dolor y visión defectuosa que se presentaba en su ojo

derecho por un mes. Estos síntomas fue debido a la exposición con la cascara de arroz. El médico le recomendó que usara gotas oftálmicas de natamicina y gatifloxacina al 5%.

En un exámen que se le hizo a la paciente con una lámpara de hendidura que fue sometido en el ojo derecho se pudo observar que había un absceso corneal que tenía un grosor completo y esto afectaba a 1/3 parte nasal de la córnea y también al limbo adyacente donde se presentó una exudación espesa que fue localizada, éste se desarrolló desde el lado endotelial hasta la iris, lo que trajo como consecuencia un encubrimiento parcial en el área pupilar.

El análisis microbiológico se identificó un *Aspergillus* negro del cultivo después de cuatro días que se designó como cepa 832/06). Se le agregó itraconazol tópico y 200 mg de ketoconazol oral dos veces al día a la natamicina, sin embargo la ulcera avanzó rápido que perforó al cuarto día. Y se reemplazó la natamicina por anfotericina B al 0.15% y se le tuvo que realizar un transplante de córnea.

Después de días de tratamiento con la anfotericina B tópica, también con el clotrimazol y después con el ketoconazol oral. Se siguió posteriormente con el ketorolaco tópico y también las gotas de ciclosporina A al 2% para poder erradicar la infección.

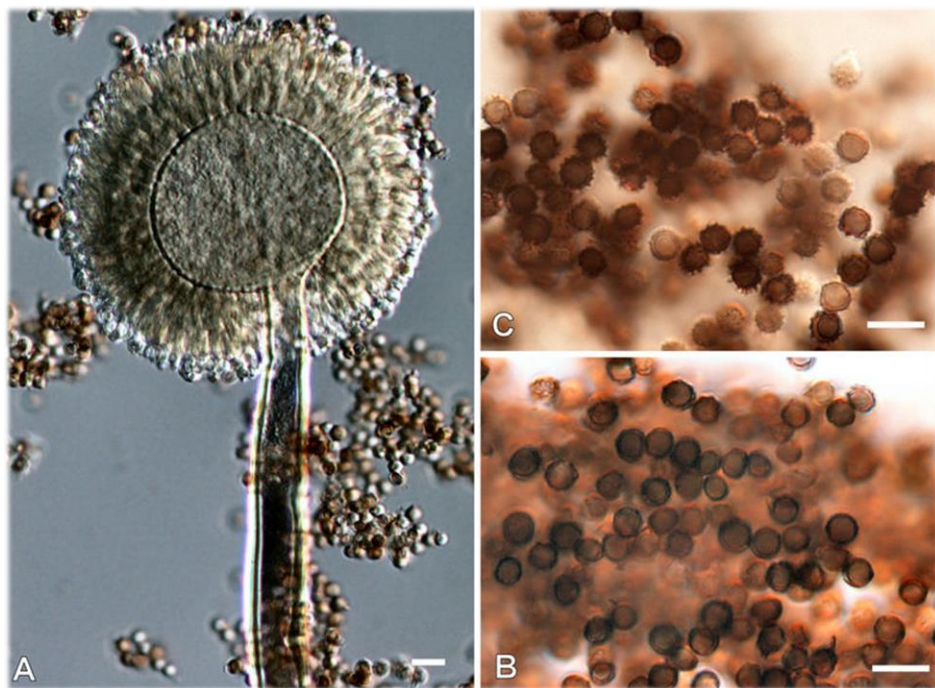
El segundo caso que se presentó fue en una mujer india de 35 años de edad según su historial de ulcera corneal que estaba presente en el ojo izquierdo que estuvo así por 15 días. Se prescribió natamicina al 5% para su tratamiento, en su historial de enucleación que tenía en el ojo derecho a causa de un trauma que tuvo hace un año anterior.

En un exámen que se le realizó a la paciente con una lámpara de hendidura se pudo percibir la presencia de una ulcera corneal central leve que era aproximadamente de 2,2 x 3 mm de tamaño esto dañaba a la 1/3 anterior del estroma. Se visualizó la cicatrización de los bordes periféricos de la úlcera. Luego de hacer un análisis microbiológico se identificó al *Aspergillus* negro (designado como cepa 138/07).



Se le dijo que continuará con el tratamiento de la natamicina en gotas para los ojos y itraconazol en pomada. Después de semanas se curó la úlcera con una resolución completa de la infiltración. Tras hacerle un seguimiento de 10 meses, se encontró que presentaba una cicatriz corneal de grado macular y también se encontró una agudeza visual corregida de 6/18.

El tratamiento con el itraconazol fue el más efectivo ya que la cepa mencionada fue más sensible este triazol que fue con un valor de MIC menor.



**Figura 14.** Micromorfología de *A. brasiliensis* - A: cidióforos, B: conidios del aislado corneal 1388/07, C: conidios del tipo de cepa 101740

## 2.2.8 Actividad Antimicótica

### 2.2.8.1 Definición

Loeffler J., Stevens D. (2003)<sup>67</sup> Desde la antigüedad las infecciones micóticas han sido un problema en la humanidad debido a su incremento de pacientes inmunodeprimidos por diferentes causas, como la enfermedad del sida, donde los pacientes son sometidos a quimioterapias a causa del cáncer, las neutropenias y los receptores de trasplantes son sometidos a terapia inmunosupresora.

Wheat J. (1995)<sup>68</sup> Algunos hongos más implicados en las infecciones que afectan a los pacientes pertenecen al género *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Acremonium*, *Fusarium* y al grupo de los dermatofitos.

Pere S., Patterson T. (2002)<sup>69</sup> La situación se complica cuando el desarrollo de los mecanismos de resistencia primaria y secundaria de los antimicóticos por algunas especies de hongos que han desarrollado resistencia ante los fármacos que sirven para el tratamiento de las enfermedades antimicóticas.

Ghannoum M., Rice L. (1999)<sup>70</sup> Sabemos que los hongos juegan un papel muy importante dentro de las enfermedades infecciosas humanas debido a la gran influencia sobre la investigación y el desarrollo de nuevos fármacos que mediante estudios se observa que tiene un mayor espectro de acción y menos toxicidad que los actuales. El producto con esas características fue la anfotericina B liposomal, con igual espectro de actividad antimicótica que la convencional pero representando menor nefrotoxicidad.

### 2.2.8.2 Características

Aveñanos M. (1993)<sup>71</sup> Se llama agente antifúngico o antimicótico es aquel que se refiere a cualquier sustancia que es capaz de producir una alteración en la morfología de la célula fúngica para conseguir inhibir su desarrollo, alterando su capacidad de supervivencia, bien

directa o indirectamente, ya que facilitaría al funcionamiento de los sistemas de la persona afectada.

La síntesis que tienen ciertos fármacos han permitido que en los comienzos del siglo XX y desde esa fecha no ha parado por conseguir un diseño de nuevas moléculas para prevenir y combatir las infecciones fúngicas invasoras, las cuales están aumentando sustancialmente en las últimas 2 décadas ya que se ha incrementado por la aparición de una enfermedad masiva como es el sida, mientras pacientes oncohematológicos son sometidos a intensas quimioterapias que pueden existir ,el uso de fármacos antirechazo en paciente receptores de trasplante y una mayor utilización de diversos dispositivos intravasculares.

### **2.2.8.3 Clasificación de los antifúngicos**

Diomedi A. (2004)<sup>72</sup> Los antimicóticos incluyen una amplia variedad de sustancias con diferentes estructuras químicas y mecanismos de acción. La clasificación se realiza según criterios convencionales que atienden a su estructura en: polienos, azoles, alilaminas, entre otros de acuerdo con su origen en sustancias producidas por organismos vivos o derivados de síntesis química; de acuerdo con su espectro de acción en: amplio o restringido y de acuerdo con el sitio de acción.

#### **2.2.8.3.1 Clasificación de los antifúngicos por su estructura**

Polienos: Nistatina, natamicina, amfotericina B

Azoles: Imidazol: miconazol, clotrimazol

Triazoles: fluconazol, itraconazol, ketoconazol

Triazoles de segunda generación: voriconazol, ravuconazol, posaconazol

Alilaminas: Terbinafina, naftifina

Lipopéptidos: Papulacandinas, triterpenos glicosilados

Equinocandinas: caspofungina, anidulofungina, micafungina

Pirimidinas fluoradas: Flucitosina

Otros: Yoduro de potasio, ciclopirox, tolnaftato, griseofulvin

### **2.2.8.3.2 Clasificación de los antifúngicos por su sitio de acción en el hongo**

Antifúngicos interactuando en pared celular: Lipopéptidos

Antifúngicos interactuando en membrana celular: Polienos, azoles  
alilaminas

Antifúngicos interactuando en núcleo: Pirimidinas fluoradas

### **2.2.8.4 Mecanismo de acción de los antifúngicos**

Arenas E. (2005)<sup>73</sup> Entre las células mamíferas y fúngicas resulta un verdadero problema a la hora de diseñar una molécula antifúngica, ya que debe ser selectiva de las células patógenas que se presentan y no de la célula humana sana. Los agentes antimicóticos han sido utilizados ante infecciones de las mucosas de las cuales una de cuatro siempre están relacionadas con hongos patógenos.

Su mecanismo de acción de los medicamentos ayuda en la inhibición del crecimiento de hongos, dependiendo el lugar en donde actúen, lo cual está relacionado con su estructura química del antifúngicos.

#### **2.2.8.4.1 Acción de los antifúngicos sobre la membrana celular del hongo**

Montero G., et al. (1998)<sup>74</sup> La membrana celular de la célula humana al igual que la de los hongos, juega un papel muy importante función en la división celular y en el metabolismo. Dentro de su estructura existen las complejas partículas lipídicas llamadas esterolatos, son aproximadamente el 25% de la membrana celular. El contenido de esterol de la célula fúngica y mamífera es muy diferente. Ya que las células de los mamíferos el colesterol es el esterol que predomina en cambio en la célula fúngica el primario es el ergosterol. La diferencia en el contenido de esteroles ha sido explotada como blanco de acción en los fármacos antifúngicos. Hiemenz J., Walsh J. (1996)<sup>75</sup> Dentro de ellos tenemos: los polietilenos, azoles y alilaminas.

Polieno: Los medicamentos que se encuentran en este grupo, vemos que se une el ergosterol presente en la membrana celular fúngica, donde se formarían los poros que van a alterar la permeabilidad de la membrana lo que trae como consecuencia la pérdida de proteínas, glúcidos y cationes monovalentes y divalentes causando la muerte celular.

Azoles: Este grupo inhibe a la citocromo P-450-3-A de la célula fúngica por medio de la inactivación de la enzima C-14- $\alpha$ -dimetilasa, donde se interrumpe la síntesis del ergosterol en la membrana celular. Debido a la carencia de este se comienza a acumular esteroides tóxicos intermedios, y por lo tanto aumenta la permeabilidad de la membrana y es así como se interrumpe el crecimiento del hongo.

Alilaminas: Su forma de trabajar es la misma que los azoles, conceptualmente ellas se encargan de inhibir la síntesis del ergosterol. Donde este grupo actúa en un paso temprano de la síntesis del ergosterol.

Inhiben a la enzima escualeno epoxidasa, donde de esta forma se disminuye la concentración de ergosterol, aumentando el nivel de escualeno, aumentando la permeabilidad de la membrana celular, y así se interrumpe su organización celular y como resultado se tendría la disminución del crecimiento del hongo.

#### **2.2.8.4.2 Antifúngicos que actúan sobre la pared celular del hongo**

Lipopéptidos: Tenemos la pared celular de los hongos que es fundamental en su viabilidad y patogenicidad. Ya que sirve de cubierta protectora, le provee morfología celular, facilitando el intercambio de iones, filtrando las proteínas también una de sus funciones es participar en el metabolismo y en el catabolismo de nutrientes complejos. En el caso de la ausencia de la pared celular sería efectivo en la terapia antifúngica.

Dentro de su composición la pared celular está compuesta por un complejo proteico y polisacárido cuya composición puede variar en dependencia de la especie de hongo. En su distribución de estas proteínas y carbohidratos que están presentes en la matriz está en relación con su función de la pared celular y los procesos de osmosis y lisis. De esta manera los antifúngicos van actuar sobre ella inhibiendo la síntesis de los glucanos por medio de la inactivación de la enzima 1,3-beta-glucano sintetasa. Por la falta de glucanos en la pared celular se vuelve incapaz de soportar el estrés osmótico y por lo tanto muere.

#### **2.2.8.4.3 Antifúngicos que actúan sobre el núcleo de la célula fúngica**

Antimetabolitos: Los antimetabolitos comunes que podemos encontrar es la fluocitasina o 5- fluorocitasina. Este fármaco se transporta por la citosina permeasa en el citoplasma de la célula fúngica, convirtiéndose en 5-fluoruracil (5-FU) por la citosina diaminaasa. El 5-FU es fosforilado donde se incorpora dentro del RNA donde se convierte en dexosinucleido, este inhibe a la timidilato sintetasa y por este mecanismo se impide la síntesis de las proteínas de la célula. Inhibiendo también la síntesis de proteína del hongo, reemplazando el uracil con 5-FU en el ARN fungino.

Arenas E. (2005)<sup>75</sup> Agentes misceláneos: Se encuentra el griseofulvin, por lo tanto se inhibe la mitosis, se destruye el huso mitótico, que es necesario para efectar su división celular.

#### **2.2.8.5 Estructura de los antifúngicos**

Amfotericina B complejo lipídico (ABLCL): Está clasificada dentro de las lactonas macrocíclica con estructura polienica. Así como las otras formulaciones de lípidos, su meta mayor es desarrollar ABLCL logrando un compuesto con baja toxicidad y su eficacia es similar comparada con la del compuesto anfotericina B.

ABLC está conformada de amfotericina del complejo B con el fosfatidilcolina del dimiristol y fosfatidilglicerol del dimiristol. En su configuración de esta molécula es como una cinta.

En cuanto su interacción con el sitio activo: la amfotericina B donde forma complejos con los ergosteroles de la membrana gracias a la cinta que tiene, se va a quedando el ergosterol atrapado en ella. La amfotericina B rodea al ergosterol ya que puede asociarse con este a través de asociaciones intermoleculares del tipo Van der Waals tipo London está presente en la parte lipofílica del fármaco y el ergosterol. Otra opción es que pueden formarse puentes de hidrógeno entre las regiones hidrofílicas del fármaco.

La configuración en cinta de ABLC convierte a este complejo herméticamente condensado. Proporciona una cantidad disminuida de droga libre y puede ser a causa de su reducida toxicidad. Siendo menos tóxica que la preparación convencional, pudiendo traer efectos secundarios serios influyendo daño renal, reacciones alérgicas (ejemplo: fiebre, escalofríos, alteraciones de la presión sanguínea), daño en la médula ósea, náuseas, etc.

Este fármaco presenta muchos nombres comerciales

Nombres comerciales de la amfotericina B

Nombre	Nombre comercial
Amfotericina B	→ Fungizone
Amfotericina B liposomal	→ Abelcet
	→ AmBisome

Johnson E., et al. (1998)<sup>76</sup> Dentro de las marcas de amfotericina B liposomal tiene menos toxicidad que las amfotericina B estándar. La amfotericina B estándar en cambio actúa de forma rápida que cualquier otro medicamento liposomales y el fármaco que es elegido en el tratamiento de la candidiasis u otra infección por hongos son muy peligrosos ya que ponen en riesgo la vida.

## **2.2.9 Fármaco**

### **2.2.9.1 Fluconazol**

#### **2.2.9.1.1 Características**

Berry A., et al. (1992)<sup>77</sup> Es un agente antifúngico comúnmente usado. Como otros triazoles, tiene 2 anillos que contienen 3 átomos de nitrógeno. El anillo benzenico que presenta tiene dos 2 flúor. Su peso molecular es bajo 306,3 Dalton. Wasan K., et al. (1998)<sup>78</sup> En cuanto sus características es una molécula polar y es simétrica por lo tanto favorece a su hidrosolubilidad. Su aspecto es un polvo blanco y cristalino, es una base débil (pka 3,7) y no son inozable a pH fisiológico.

#### **2.2.9.1.2 Solubilidad**

Es soluble en agua por lo tanto es apto para la administración endovenosa, penetrando muy bien en fluidos corporales. Interacción con el sitio activo. Se puede asociar con los sitios activos de la enzima a través de puente de hidrógeno y con el grupo OH del fármaco, con una interacción que tiene fuerza a unos 5 kcal/mol.

Pea F., Furlanut M. (2001)<sup>79</sup> Tenemos los triazoles estos interactúan en diferente escala con un complejo llamado CYP-450 en los seres humanos ya que esto provoca interacciones con otros medicamentos, esto genera un aumento en los niveles en el plasma de los medicamentos que muchas veces son metabolizados por esta enzima permitiendo la presencia de efectos adversos.

#### **2.2.9.1.3 Mecanismo de Acción**

Ghannoum M., Kuhn D. (2002)<sup>80</sup> En su mecanismo de acción del fluconazol se dice que estos compuestos van a actuar a través de un retardo en la enzima conocida como lanosterol 14 –  $\alpha$  demetilasa con el complejo citocromo P- 450 en los hongos.

Teniendo como resultado al retardar la conversión de compuesto conocido como lanosterol a ergosterol, siguiendo el proceso de



desplegar la enzima (ergosterol), acumulación de sus derivados y la pérdida de su actividad en la membrana fúngica.

#### **2.2.9.1.4 Biodisponibilidad**

Martin M. (1999)<sup>81</sup> Este compuesto posee una alta disponibilidad luego de ser administrado oralmente, lo que le permite alcanzar concentraciones plasmáticas que equivalen uno 80% que son obtenidas en dosis endovenosa. Dentro de su absorción no interfiere en los fármacos que son inhibidores H<sup>+</sup> o en los alimentos; ya que posee una prolongada vida media esto permite que pueda ser por administración oral. En caso que este compuesto sea administrado por concentraciones plasmáticas mayores, ya que se debe por su alta biodisponibilidad, por eso los pacientes son tratados por administración oral.

#### **2.2.9.1.5 Eficacia del Fluconazol**

Rex J., et al. (2003)<sup>82</sup> Dentro de su eficacia que ha sido demostrada por haber sido sometido a diferentes estudios randomizados controlados, comparativos, en los cuales se evalúan las amfotericina B deoxicolato, conocido como un antifúngico empleado para el tratamiento de las infecciones deseminadas específicamente por *Candida spp* esto es ante un advenamiento.

## **2.3 Formulación de las hipótesis**

### **2.3.1 Hipótesis general**

El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera tiene actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.

### **2.3.2 Hipótesis específicas**

- 1) Los tipos de metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera son responsables de la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.
- 2) La concentración del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, *in vitro*.
- 3) La concentración del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.

## 2.4 Variables

### 2.4.1 Tabla de Operacionalización de Variables

VARIABLES	TIPO DE VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES
<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b></p> <p>Extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera</p>	Cualitativa	<p>Terapéutico: Tratamiento administrado</p> <p>Metabolitos secundarios</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Concentración del extracto 5% 15% 30% 75%</li> </ul>
<p><b>VARIABLE DEPENDIENTE</b></p> <p>Actividad antimicótica</p>	Cuantitativa	<p><b>EFFECTO ANTIMICÓTICO:</b> Se midió mediante mm a través de los halos de inhibición antimicrobiana. <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404</p> <p><b>CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CIM):</b> Se realizó el recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), mediante el uso del contador de colonias</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diámetro de halos de inhibición en mm de acuerdo a la Escala de Duraffourd.</li> <li>- Desviación estándar</li> <li>- Porcentaje de inhibición</li> </ul>

## 2.5 Marco Conceptual

- **Acción fungicida:** es un efecto físicamente visible ya que trata de retardar crecimiento micelial del hongo<sup>83</sup>.
- **Antibiograma difusión de microdiscos:** es una técnica de investigación para la determinar la sensibilidad bacteriana que tienen los antimicrobianos<sup>84</sup>.
- **Compuestos Fenólicos:** son un grupo de sustancias que dentro de su composición tiene un anillo aromático, y está unido a uno o más grupos de hidroxilo, también están presentes sus derivados funcionales como los ésteres, glúcidos entre otros<sup>22</sup>.
- **Dilución en Medio Sólido:** es una técnica en el que incorpora concentraciones variadas de agentes antimicrobianos, donde el medio ya se ha solidificado con agar mayormente se utilizan doble diluciones y donde se aplica el inóculo bacteriano<sup>85</sup>.
- **Extracto vegetal:** es el concentrado que se obtuvo de una determinada planta con un solvente, como el agua, etanol, éter, etc. También se le conoce como la mezcla de principios activos y algunas sustancias inertes<sup>86</sup>.
- **Fitoquímica:** es una disciplina científica que permite detectar o determinar los metabolitos secundarios que se puede encontrar en la planta estudiada<sup>87</sup>.
- **Hongos Filamentosos:** son microorganismos eucarióticos estos se reproducen por esporas, sexual o también asexualmente<sup>88</sup>.
- **Infecciones fúngicas:** son conocidas por causar enfermedades pueden clasificarse en dos grupos superficiales y profundas estos

afectan a la piel e incluso pueden producir una infección más profunda en el epitelio<sup>89</sup>.

- **Medicina Tradicional:** es el conjunto de conocimientos, habilidades que son utilizadas en el cuerpo humano empleando la naturaleza ya que estas plantas pueden ser importante en el diagnóstico, prevención de enfermedades<sup>90</sup>.
- **Medio de cultivo:** es una técnica muy importante para su estudio y su identificación de los microorganismos ya que son nutrientes que permiten el crecimiento en el laboratorio<sup>91</sup>.
- **Metabolitos:** son compuestos químicos que tienen en su composición una estructura compleja posee una distribución muy restringida estos están presentes en las plantas<sup>92</sup>.
- **Recuento microbiano:** esta técnica se basa en el recuento de número de colonias que crecen en la placa de agar que previamente han sido inoculadas y incubadas<sup>93</sup>.
- **Solubilidad:** se puede definir cualitativamente al intercambio de una o más sustancias para que se dispersen molecularmente homogénea<sup>94</sup>.

## CAPITULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo de Estudio:

De acuerdo a las características de la investigación y los objetivos planteados se determinó un estudio de tipo:

- **Experimental** debido a que se manipuló una variable independiente (extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera) y se midió la variable dependiente (actividad antimicótica).
- **Observacional** debido a que se utilizó la observación así mismo se registró los diferentes acontecimientos sin intervenir en el curso natural de éstos.
- **Cuantitativo** ya que se realizó las diferentes mediciones del diámetro de los halos efectuados.
- **Transversal** debido a que la observación de las variables se desarrolló en un periodo de tiempo determinado y delimitado.

### 3.2 Diseño de Investigación

- **Diseño experimental:**

El extracto vegetal se obtuvo por maceración, posteriormente se realizó la identificación de metabolitos secundarios (Tamizaje fitoquímico). La actividad antimicótica se determinó por el método de Kirby-Bauer cultivo *in vitro* con cepas de control de: *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, se analizó el extracto etanólico de la hoja de *Lomanthus truxillensis* Cabrera a concentraciones de 5%; 15%; 30% y 75%. Se determinó el efecto inhibitorio por ensayos de recuento microbiano y a través de la medición del halo de inhibición según la escala de Durafford, se determinó activos a aquellos extractos con actividad moderadamente activa.

### **3.3 Población**

#### **3.3.1 Población microbiológica**

- Estuvo conformada por cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 (Anexo N°2) y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 (Anexo N°3).

#### **3.3.2 Población vegetal**

- Constituida por la especie vegetal *Lomanthus truxillensis* Cabrera en una parcela de 10 m x 10 m aproximadamente, en la Loma ACP Cerro Campana, distrito de Huanchaco – La Libertad; cumpliendo con los criterios de inclusión y exclusión.

### **3.4 Muestra**

#### **3.4.1 Muestra microbiológica**

- Estuvo conformado por el número de colonias que se empleó para la preparación del inóculo bacteriano, osciló entre 5 a 7 colonias de tamaño y morfología similar

#### **3.4.2 Muestra vegetal**

- Se emplearon 1<sup>1/2</sup> kg de hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

### **3.5 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos:**

#### **3.5.1 Técnica de recolección de datos:**

En el presente trabajo de investigación se aplicó la técnica de la observación de tipo estructurada, colectivo llevado a cabo por ambos investigadores en el laboratorio donde realizarán una evaluación y registrarán todo los datos en el instrumento de investigación.

## **1. MATERIAL**

### **a. MATERIAL DE LABORATORIO**

#### **Material de Vidrio:**

- 02 Probetas de 100 ml
- 03 Baguetas
- 02 Pipetas de 1 ml
- 02 Pipetas de 5 ml
- 02 Pipetas de 10 ml
- 04 Frasco ámbar de 250 ml
- 01 Frasco ámbar de 1000 ml
- 02 Frasco 500 ml Boeco
- 12 Tubos de ensayo
- 70 Placas Petri

#### **Equipos e Instrumentos:**

- Balanza analítica
- Equipo de Rotavapor
- Autoclave
- Estufa
- Refrigeradora
- Incubadora microbiológica
- Vernier digital
- Asa de Drigalsky
- Gradilla
- Hisopos
- Cocina eléctrica
- Mechero
- Espátula de metal



#### **b. REACTIVOS Y SOLVENTES**

- Ácido Clorhídrico al 1%
- Ácido Sulfúrico
- Tricloruro férrico al 5%
- Anhídrido acético
- Cloruro de sodio NaCl
- Cintas de Magnesio metálico (Shinoda)
- Ninhidrina 2,4 -DNFH
- Nitrato de plata
- Reactivo Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo Molish
- Reactivo Benedict
- Reactivo Fehling A y B
- Reactivo Gelatina
- Reactivo Vainillina Sulfúrica
- Agua destilada
- Etanol 96°C
- Solución salina fisiológica
- Metanol
- Diclorometano
- N-hexano

#### **c. MEDIOS DE CULTIVO**

- Agar Sabouraud Dextrosa

#### **d. OTROS**

- Algodón
- Cinta masking tape
- Guantes estériles
- Gorro
- Mascarilla
- Papel filtro estéril

- Etiquetas
- Tijera
- Plumón indeleble
- Cámara digital

### **3.5.2 Procedimiento Experimental:**

#### **3.5.2.1 Recolección de la Especie**

Las hojas frescas de la especie de *Lomanthus truxillensis* Cabrera fue recolectada de las lomas costeras del ACP Cerro Campana del distrito de Huanchaco, provincia de Trujillo, región de La Libertad en las coordenadas geográficas de 7° 59' 07,2" latitud sur y 79° 06' 11,5" longitud oeste y a 679 m.s.n.m. en el mes de Noviembre del 2017.

#### **3.5.2.2 Determinación Taxonómica de la Especie**

Se llevó una muestra recolectada de la especie *Lomanthus truxillensis* Cabrera al Museo de Historia Natural para su verificación taxonómica y luego fue registrada y depositada en el Herbarium Truxillense (HUT) con el código N° 59265 (Anexo N°4).

#### **3.5.2.3 Preparación del Material Vegetal**

##### **a. Selección de las hojas**

Se procedió a la selección de las hojas que estaban en buenas condiciones, separando las partes deterioradas y con hongos e insectos.

##### **b. Lavado de las hojas**

Luego de la selección, se lavaron las hojas con agua destilada.

##### **c. Secado de las hojas**

Se procedió a extender las hojas en papel kraft para al secado a temperatura ambiente y luego en la estufa a 40°C por 48 horas.

#### **d. Molienda de las hojas**

Para la molienda de las hojas desecadas, se utilizó el molino de pulverizar.

### **3.5.2.4 Preparación del Extracto Etanólico**

- a. Se procedió con el pesado de las hojas.
- b. Se utilizó 283 g de hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera y se colocaron en un frasco de vidrio de color ámbar.
- c. Luego se añadió 400 mL de etanol de 96° GL; se tapó el recipiente
- d. Se llevó a maceración por 7 días a temperatura ambiente, agitándose de 1 – 5 minutos, dos veces al día, protegidas de luz y calor.
- e. El macerado se filtró en papel filtro Whatman N°1 y el filtrado (extracto etanólico) se evaporó en un rotavapor (Heidolph WB 2000) y a temperatura controlada no mayor a 40°C hasta obtener un extracto seco.
- f. Se obtuvo 85 g de concentrado de extracto blando, finalmente se pesó y se guardó en refrigeración a 4°C en un frasco de vidrio de color ámbar para su uso.

### **3.5.2.5 Análisis Cualitativo de las Hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera**

#### **3.5.2.5.1 Prueba de Solubilidad**

Sirve para identificar en que solvente es más soluble el extracto blando de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, para ello debe tener una estructura semejante a él.

- **Procedimiento:** Se emplearon 5 tubos de ensayo, con el apoyo de una bagueta se colocó una alícuota del extracto blando vegetal, posteriormente se adicionó a cada tubo un

solvente diferente a analizar y se procedió a agitar hasta observar resultados.

- **Solventes:** Se seleccionaron diferentes solventes y fueron ordenados según su polaridad en el orden siguiente: n-hexano, diclorometano, metanol, etanol y agua

### 3.5.2.5.2 Marcha Fitoquímica del Extracto

La marcha fitoquímica se realizó según Miranda y Cuellar. Utilizando extracto etanólico seco de hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera.

- **Procedimiento:** En un tubo de ensayo se adicionó 5 gramos de extracto blando vegetal, luego se agregó 7 ml de etanol, posteriormente se agitó de 2 a 3 minutos. Se seleccionaron 12 tubos de ensayo donde se distribuyó.
- **Reactivos:** Se seleccionaron los siguientes reactivos :
  - Reactivo Dragendorff
  - Reactivo de Mayer
  - Reactivo de Wagner
  - Reactivo Molish
  - Reactivo Benedict
  - Reactivo Fehling A y B
  - Reactivo Gelatina
  - Reactivo Vainillina Sulfúrica

### **3.5.2.6 Estudio Microbiológico**

#### **3.5.2.6.1 Actividad antimicótica**

**Método:** Difusión de disco - Inoculación

**Técnica:** Siembra en superficie

#### **3.5.2.6.2 Obtención de los microorganismos**

Se trabajó con una cepa estándar de *Candida albicans* ATCC 10231 (American Type Culture Collection) y *Aspergillus brasiliensis* ATC 16404 (American Type Culture Collection). Producto diseñado solo para propósito de estudio en investigaciones científicas in vitro.

#### **3.5.2.6.3 Preparación del medio de cultivo**

Para el crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404. Se utilizó medios enriquecidos como el Agar Sabouraud Dextrosa. Una vez escogido el medio previamente elaborado se procedió a rotular 70 placas petri las cuales se utilizaron para la siembra.

#### **3.5.2.6.4 Preparación de las concentraciones**

A partir del extracto etanólico blando de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, se pesaron por separado 0.5 g, 1.5 g, 3 g y 7.5 g se redisolvió con 10 mL de etanol, así obteniéndose concentraciones de 5 %, 15 %, 30 % y 75 % p/v.

#### **3.5.2.6.5 Preparación del inóculo y estandarización**

Se resuspendieron en un tubo con 5 mL de solución salina estéril (CINa 0.85%). Se tomó una asada de cada microorganismo, se agitó bien y se ajustó a la turbidez al equivalente al tubo N° 0,5 de la escala de Mac Farland hasta alcanzar el inóculo  $10^8$  hongos/mL.

Los tubos fueron girados agitados antes de proceder al sembrado para distribuir los microorganismos. Se utilizó *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Debido a las sustancias volátiles se procedió a inocular todas las placas petri, utilizando un hisopo estéril fue embebido con la cepa preparada y a una distancia de 10 cm de la llama del mechero se procedió al sembrado, girando cada placa 30 grados 10 veces aproximadamente. Las placas recién sembradas fueron colocadas en una estufa a 37°C durante 10 minutos.

#### **3.5.2.6.6 Prueba de la actividad antimicótica**

##### **o Cultivo de *Candida albicans***

Para determinar la susceptibilidad de *Candida albicans* se utilizó el método de difusión de discos de Kirby-Bauer, el cuál se prepararon discos de papel del filtro estéril para ser sumergido en la concentración de *Lomanthus truxillensis* Cabrera (5%, 15%, 30 % y 75 %), y para el control positivo Fluconazol.

Transcurrido 5 horas, con el uso de una aguja estéril se colocaron sobre el cultivo de *Candida albicans* en las placas petri, previamente preparadas; las placas se mantuvieron en la misma posición durante 10 minutos.

Luego, las placas se voltearon de posición y se incubaron, a una temperatura de 37°C durante 48 horas.

La lectura se llevó a cabo a las 48 horas mediante la inspección visual de cada placa. Se midieron los diámetros en milímetros de cada halo de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* empleando un vernier digital.

o **Cultivo de *Aspergillus brasiliensis***

Para determinar la susceptibilidad de *Aspergillus brasiliensis* se utilizó el método de difusión de discos de Kirby-Bauer, el cuál se prepararon discos de papel del filtro estéril para ser sumergido en la concentración de *Lomanthus truxillensis* Cabrera (5%, 15%, 30% y 75%), y para el control positivo Fluconazol.

Transcurrido 5 horas, con el uso de una aguja estéril se colocaron sobre el cultivo de *Aspergillus brasiliensis* en las placas petri, previamente preparadas; las placas se mantuvieron en la misma posición durante 10 minutos.

Luego, las placas se voltearon de posición y se incubaron, a una temperatura de 37-°C durante 48 horas.

La lectura se llevó a cabo a las 48 horas mediante la inspección visual de cada placa. Se midieron los diámetros en milímetros de cada halo de inhibición del crecimiento de *Aspergillus brasiliensis* empleando un vernier digital.

Finalmente ambos resultados se evaluaron mediante la escala de Duraffourd<sup>98</sup>.

**ESCALA DE DURAFFOURD**

La escala de duraffourd es utilizada para la determinación cuantitativa del efecto inhibitorio *in vitro*. Según su diámetro de inhibición puede ser:

**TABLA N°2. Escala de Duraffourd**

<b>Nula (-)</b>	<b>Sensible (+)</b>	<b>Muy sensible (++)</b>	<b>Sumamente sensible (+++)</b>
<b>Inferior 8 mm</b>	Entre 8 a 14 mm	Entre 14 y 20 mm.	Superior a 20 mm

**Fuente: Duraffourd C. 1983**

### 3.5.2.6.7 Determinación de la Concentración Fungicida

Para determinar si la concentración del extracto de hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera influye en la actividad antimicótica, se procedió los siguientes pasos.

- Se prepararon diluciones en tubos de ensayo conteniendo solución salina más la concentración de *Lomanthus truxillensis* Cabrera al 5%, 15%, 30% y 75%.
- Seguidamente se colocaron en tubos 0,8 mL de cada concentración y 0,2 mL de los cultivos cada cepa preparada respectiva. De igual forma se prepararon los grupos control de fluconazol 0,8 mL y 0,2 mL de cada cepa. Y un control con el cultivo de cada cepa respectiva sin tratamiento, 1 mL.
- Luego todos los tubos se incubaron a una temperatura de 37°C durante un periodo de 48 horas.

La determinación de la concentración fungicida, se realizó luego de 24 horas, empleando Agar Sabouraud Dextrosa para *Candida albicans* y para *Aspergillus brasiliensis*, tomando 0,1 mL de cada uno de los tubos y dispersándolo en toda la placa para determinar las Unidades Formadora de Colonias (UFC) utilizando el asa de Driglasky.

Luego del sembrado todos los cultivos fueron llevados a incubación a 37°C durante 48 horas.

Se efectuaron 5 repeticiones por concentración. Pasado las 48 horas se realizó el conteo de las colonias en cada una de las placas. La concentración fungicida es aquella en la que se inhibe totalmente el desarrollo de gérmenes.



### **3.5.3 Instrumento de Recolección de Datos**

El instrumento de recolección de datos en el presente trabajo de investigación será una ficha de observación Ad-Hoc que ha sido validada por el juicio de expertos, elaborada con fines de investigación. Así mismo cuenta con ítems acorde a los indicadores de las variables operacionalizadas.

### **3.5.4 Validación del Instrumento**

Este es un instrumento que se empleó. Para ello requirió de validación previa por lo cual se estableció en base al grado de su objetividad, viabilidad, confiabilidad, eficacia y validez.

El instrumento que se presenta se alcanzó en base a su simpleza por no ser de procedimientos complejos, siendo la recolección de datos de no emplear procedimientos excesivos por parte del investigador,

La validez de contenido se obtuvo mediante la evaluación por juicio de expertos que son los siguientes:

- Dra. Q.F. Britt Alvarado especialista en Farmacognosia
- Dr. Q.F. Jacinto Hervias especialista en Microbiología

Los jueces calificaron las características del instrumento mediante una ficha de validación de expertos (**Anexo N°6**) por ello se le entrego a cada uno la matriz de consistencia del estudio (**Anexo N°5**).

## **3.6 Procesamiento de Datos**

En el presente trabajo de investigación se calculó la media y desviación estándar que son presentadas en tablas y gráficos. Se codificó y se usó una base de datos con el uso de software estadístico IBM SPSS ver. 24 en español, por Windows 10, para establecer la distribución de los datos recolectados a través de medidas de tendencia central, forma, dispersión y posición.

Para la contrastación de hipótesis, se utilizó el Análisis de Varianza (ANOVA), ya que permite la comparación de las puntuaciones medias entre

dos o más grupos muestrales. La finalidad de esta prueba es para establecer si existen diferencias significativas entre los grupos.

Así mismo, se empleó el método de Diferencia Significativa Honesta (DSH) de Tukey, como también los subconjuntos homogéneos correspondientes.

Tanto los resultados de las pruebas estadísticas descriptivas como inferenciales están expresadas mediante tablas y gráficos en Excel.

Los resultados muestrales fueron inferidos a la población mediante estimación por intervalo a un 95% de confianza.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1 Presentación de resultados

En base a los objetivos formulados en este estudio, se organizan a continuación los resultados obtenidos con los tratamientos *in vitro* para evaluar el efecto de diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*. Los resultados se muestran en las tablas y figuras siguientes.

#### 4.1.1 Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

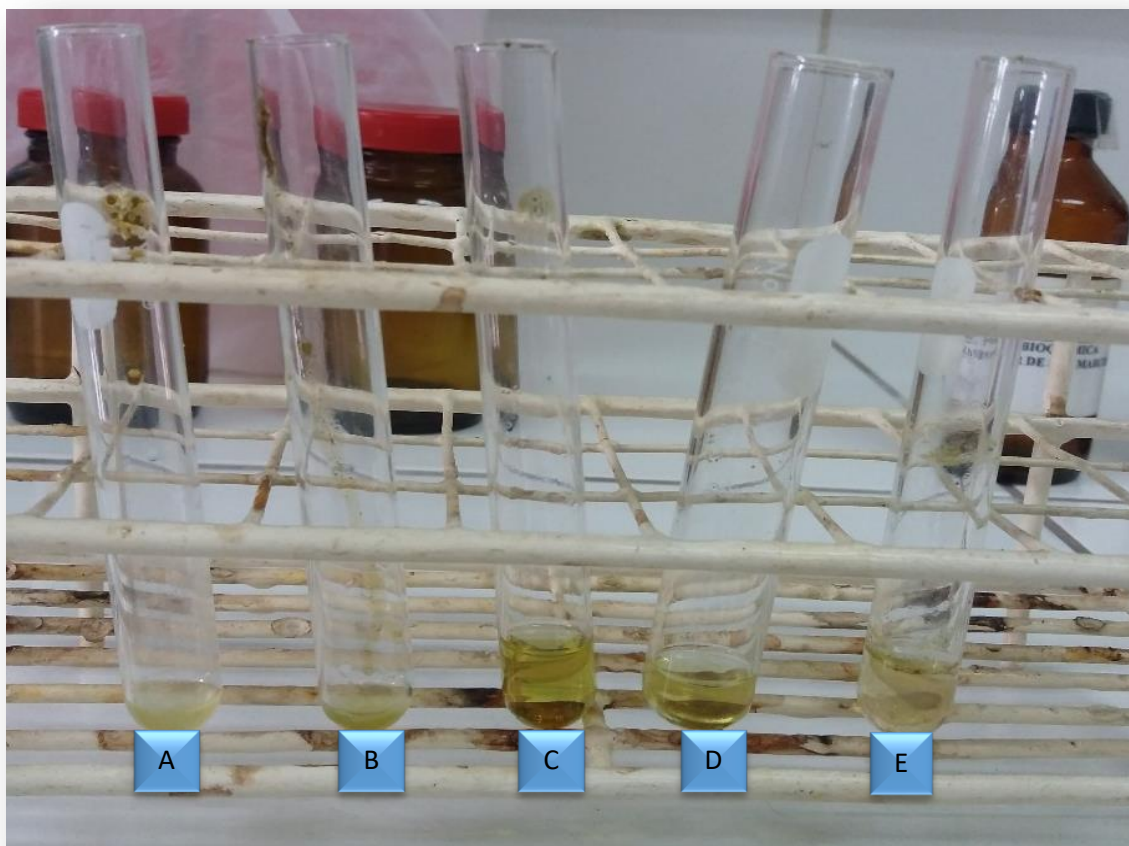
**TABLA 3**

**Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera.**

	SOLVENTE	PROCEDIMIENTO	RESULTADOS
PRUEBA DE SOLUBILIDAD	N-HEXANO	En un tubo de ensayo agregar 1 mL de N-hexano. Observar	+
	DICLOROMETANO	En un tubo de ensayo agregar 1 mL de Diclorometano. Observar	+
	METANOL	En un tubo de ensayo agregar 1 mL de Metanol. Observar	+++
	ETANOL	En un tubo de ensayo agregar 1 mL de Etanol. Observar	+++
	AGUA	En un tubo de ensayo agregar 1 mL de Agua. Observar	++

**Leyenda: (+) Menor solubilidad; (++) Regular solubilidad; (+++) Mayor solubilidad.**

Se observa en la tabla 3 que el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera es muy soluble en los reactivos metanol y etanol; regularmente soluble en agua; y poco soluble en los reactivos n-hexano y diclorometano.



**Figura 15.** Prueba de Solubilidad de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

- A: N-Hexano
- B: Diclorometano
- C: Metanol
- D: Etanol
- E: Agua

#### 4.1.2 Recuento microbiano en cepas de *Candida albicans*

**TABLA 4**

**Efecto antimicótico *in vitro* de concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* a través de recuento microbiano.**

Grupos de tratamiento	N	Promedio	Desv. estándar	T	Sig. (bilateral)
Extracto 5% + C. A.	5	0	0	-	-
Extracto 15% + C. A.	5	0	0	-	-
Extracto 30% + C. A.	5	0	0	-	-
Extracto 75% + C. A.	5	0	0	-	-
Con fluconazol	5	$46 \times 10^{-8}$	$103 \times 10^{-9}$	<b>-4,587**</b>	0,002
Sin fluconazol	5	$77 \times 10^{-8}$	$111 \times 10^{-9}$		

\*\* Significativo al nivel de  $p < 0,01$ .

En la tabla 4, se aprecia que hay diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) entre el grupo que recibió fluconazol y el que no recibió fluconazol, observándose un menor recuento microbiano en el grupo con fluconazol, con  $46 \times 10^{-8}$ .

Respecto al extracto de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, en sus diferentes concentraciones, se observó que las diferencias son altamente significativas, pues no se formaron Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en las cepas de *Candida albicans*.

#### 4.1.3 Recuento microbiano en cepas de *Aspergillus brasiliensis*

**TABLA 5**

**Efecto antimicótico *in vitro* de concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Aspergillus brasiliensis* a través de recuento microbiano.**

Grupos de tratamiento	N	Promedio	Desv. Estándar	T	Sig. (bilateral)
Extracto 5% + A. B.	5	0	0	-	-
Extracto 15% + A. B.	5	0	0	-	-
Extracto 30% + A. B.	5	0	0	-	-
Extracto 75% + A. B.	5	0	0	-	-
Con fluconazol	5	$37 \times 10^{-8}$	$48 \times 10^{-9}$	<b>-8,601**</b>	0,000
Sin fluconazol	5	$76 \times 10^{-8}$	$91 \times 10^{-9}$		

\*\* Significativo al nivel de  $p < 0,01$ .

En la tabla 5, se advierte que hay diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) entre el grupo que recibió fluconazol y el que no recibió fluconazol, registrándose un menor recuento microbiano en el grupo con fluconazol, con  $37 \times 10^{-8}$ .

Respecto al extracto de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, en sus diferentes concentraciones, se pudo apreciar que las diferencias son altamente significativas, pues no se establecieron Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en las cepas de *Aspergillus brasiliensis*.

## 4.2 Contrastación de hipótesis

Para realizar la contrastación de hipótesis, se procedió a aplicar la prueba estadística de ANOVA, que permite la comparación de las puntuaciones medias entre más de dos grupos muestrales, como en el caso de este estudio, que considera un grupo de control y cuatro grupos experimentales. La finalidad de esta prueba es establecer si existen o no diferencias significativas entre los grupos de tratamiento, comparados en la media de halos de inhibición en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*, con las diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera.

Así mismo, para determinar la concentración del extracto etanólico con mayor efecto antimicótico, se empleó el método de Diferencia Significativa Honesta (DSH) de Tukey, así como los subconjuntos homogéneos correspondientes.

### 4.2.1 Contrastación de la hipótesis general

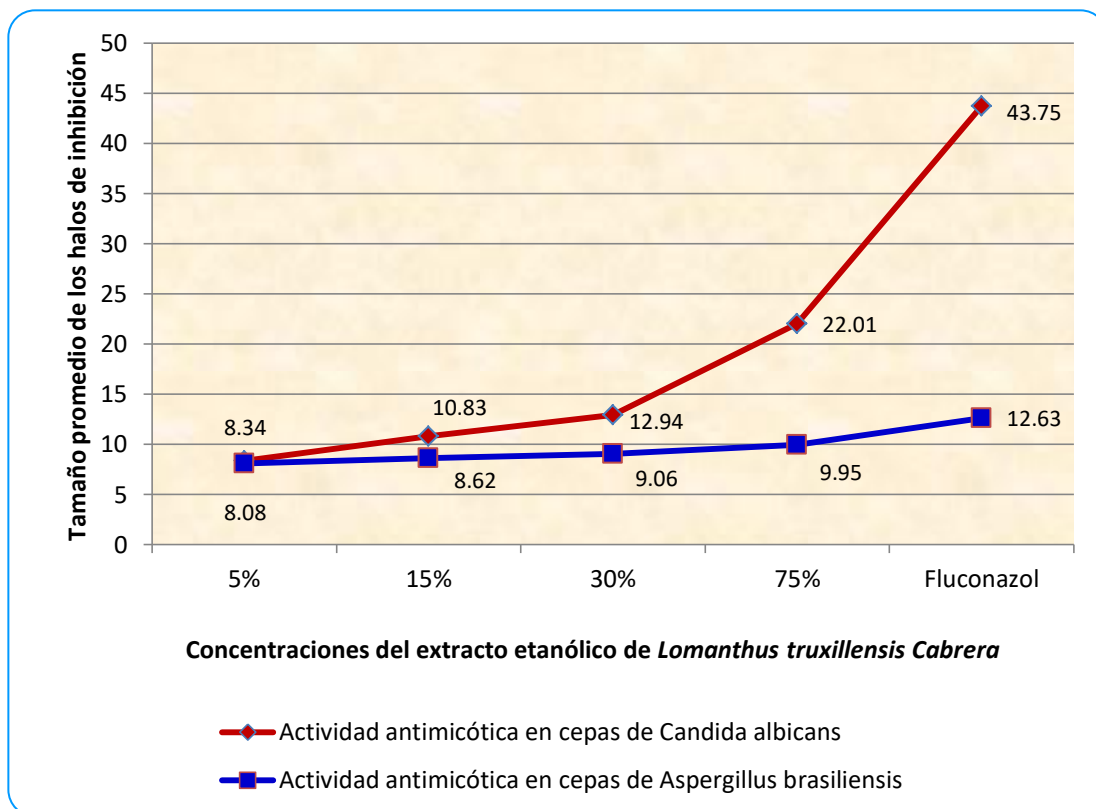
**H<sub>g</sub>:** El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.

**H<sub>0</sub>:** El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera no influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.

La comprobación de la hipótesis general está dada en función de las contrastaciones realizadas con cada una de las hipótesis específicas. En consecuencia, al haberse encontrado significatividad en los resultados estadísticos del ANOVA y el test de Tukey, tanto en cepas de *Candida albicans* como en cepas de *Aspergillus brasiliensis*, se infiere que el

mencionado extracto influye en la actividad antimicótica, con un significativo incremento del área de los halos de inhibición.

**Decisión:** Por tanto, se rechaza la hipótesis nula de la hipótesis general.



**Gráfico 1.** Promedios de halos de inhibición de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*

Promedios de los halos de inhibición en las cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis* como efecto de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera.

#### 4.2.2 Contrastación de las hipótesis específicas

**H<sub>1</sub>:** El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera presenta tipos de metabolitos responsables de la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 , *in vitro*.



**H<sub>0</sub>:** El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera no presenta tipos de metabolitos responsables de la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 , *in vitro*.

**TABLA 6**  
**Marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera.**

MARCHA FITOQUÍMICA			
FITOCOSTITUYENTE	ENSAYO	COLOR Y PRECIPITADO	RESULTADOS
1.- AMINOÁCIDOS	Reacción de Ninhidrina	Coloración verde claro	++
2.- TANINOS	Reacción de Gelatina	Precipitado blanco	++
3.- COMPUESTOS FENÓLICOS	Reacción de Cloruro Férrico (FeCl <sub>3</sub> )	Coloración verde azulado	+++
4.- ALCALOIDES	A. Reacción de Dragendorff	Precipitado color rojo ladrillo	++
	B. Reacción de Mayer	Precipitado color blanco lechoso	++
	C. Reacción de Wagner	Precipitado color marrón	++
5.- QUINONAS	Reacción de Bortranger	Coloración marrón amarillento	-
6.- FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda (HCl (conc) + Mg°)	Coloración rojizo	++
7.- GLICÓSIDOS	Reacción de Molish (Molish + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (conc) )	Anillo violáceo	++
8.- AZÚCARES REDUCTORES	Reactivo Fehling A (CuSO <sub>4</sub> ) Reactivo Fehling B (Tartrato de sodio y potasio)	Precipitado rojo ladrillo	+
9.- SAPONINAS	Reacción de Espuma	Espuma	++
10.- TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	Reacción de Liebermann-Burchard	Coloración verde	++

**Leyenda:**

**(+)** Presencia Positiva de Intensidad Baja

**(++)** Presencia Positiva de Intensidad Regular

**(+++)** Presencia Positiva de Intensidad Abundante

Se aprecia en la tabla 6 que el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, al pasar por la marcha fitoquímica, presenta abundantes metabolitos como los compuestos fenólicos; regular presencia de aminoácidos, taninos, alcaloides, flavonoides, glicósidos, saponinas, y triterpenos y/o esteroides; así como baja presencia de quinonas y azúcares reductores.

#### **METABOLITOS:**

- **Aminoácidos (reactivo Nihidrina):** La presencia de aminoácido es positiva si presenta coloración azul violáceo, verde. Nuestra muestra se observó un color verde claro, como resultado positivo.
- **Taninos (reactivo Gelatina):** La presencia de precipitado blanco indica la presencia de taninos. Nuestra muestra presenta un precipitado blanco, como resultado positivo.
- **Compuestos Fenólicos (ensayo FeCl<sub>3</sub>):** Desarrolla una coloración azul, verde intensa y rojo vino. Nuestra muestra se observó un color verde azulado, como resultado positivo.
- **Alcaloides:**
  - **Reactivo Dragendorff:** La formación de precipitado rojo ladrillo indica presencia de alcaloides. Nuestra muestra se observó un color rojo ladrillo, como resultado positivo
  - **Reactivo Mayer:** La formación de precipitado blanco indica presencia de alcaloides. Nuestra muestra se observó un precipitado blanco lechoso, como resultado positivo.
  - **Reactivo Wagner:** Debido a la sensibilidad del reactivo, presenta alcaloides si presenta color café claro al rojo o pardo oscuro. Nuestra muestra presenta una coloración marrón, como resultado positivo.
- **Quinonas (reactivo Bortranger):** Se considera positivo si presenta una coloración rosada, roja semi oscuro. Nuestra muestra se observa poca

presencia por quinonas por tornarse una coloración marrón amarillento, como resultado negativo.

- o **Flavonoides (ensayo Shinoda):** El ensayo se considera positivo por la presencia de un anillo amarillo rojizo, coloración roja indicando presencia de flavonoides. Nuestra muestra presenta coloración rojizo, como resultado positivo.
- o **Glicósidos (reacción Molisch):** Se considera positiva si da la formación de un anillo color violeta. Nuestra muestra da positivo al observar la presencia de un anillo violáceo en la interface del tubo.
- o **Azucres Reductores (reacción Fehling A y B):** El ensayo se considera positivo si da un precipitado rojo ladrillo. Nuestra muestra se observó precipitado rojo ladrillo, como resultado positivo.
- o **Saponinas (reacción Espuma):** El ensayo se considera positivo si se aprecia espuma en la superficie del líquido. Nuestra muestra se observó presencia de espuma, como resultado positivo.
- o **Triterpenos y Esteroides (reactivo Lieberman-Burchard):** se considera positivo si se detecta una coloración rojo (triterpenos); coloración verde (esteroides). Nuestra muestra se observó una coloración verde, como resultado positivo de esteroides



Leyenda:

A: Aminoácidos

B: Taninos

C: Compuestos Fenólicos

D: Alcaloides

E: Quinonas

F: Flavonoides

G: Glicósidos

H: Azucres Reductores

I: Saponinas

J: Triterpenos

**Figura 16.** Marcha Fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis*

**H<sub>2</sub>:** El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, *in vitro*.

**H<sub>0</sub>:** El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera no influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, *in vitro*.

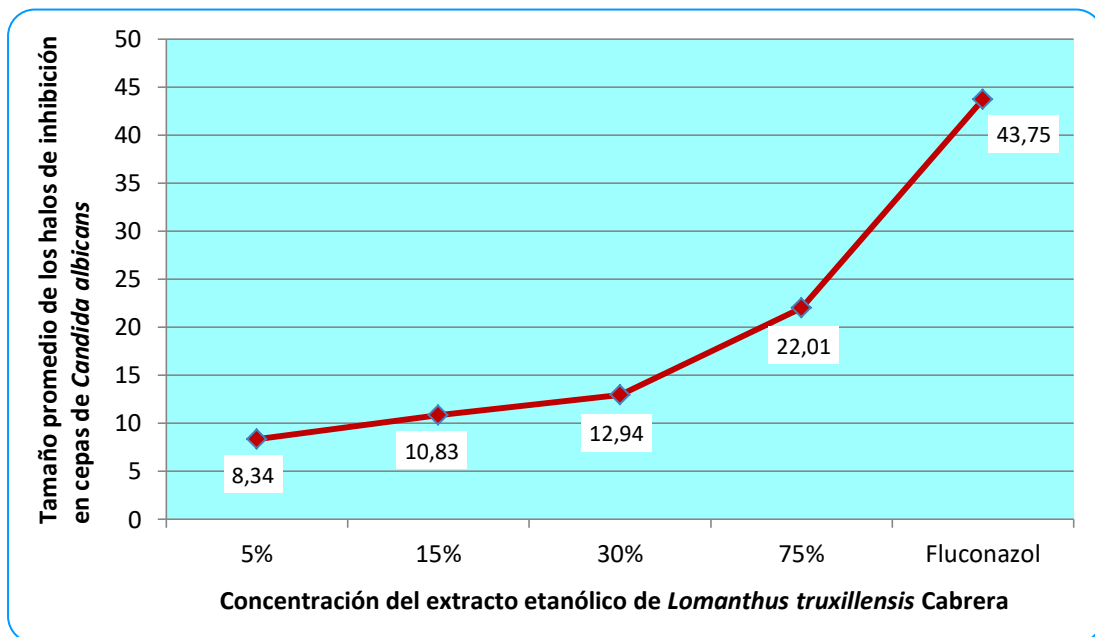
**TABLA 7. Prueba de ANOVA de la media de halos de inhibición en las cepas de *Candida albicans*.**

Prueba de ANOVA					
Tratamientos	N	Media	Desv. Estándar	F	Sig.
Control	5	43,75	4,099	<b>38,483**</b>	0,000
5%	5	8,34	0,219		
15%	5	10,83	2,487		
30%	5	12,94	1,891		
75%	5	22,01	10,458		

\*\* Significativo al nivel de  $p < 0,01$ .

En la tabla 7 se observa que la media más alta de halos de inhibición en las cepas de *Candida albicans* (43,75) se mantiene en el grupo de control, en el que se aplicó fluconazol como antimicótico. No obstante, entre las concentraciones de los extractos de *Lomanthus truxillensis* Cabrera la mayor medición media (22,01) se registra en el grupo con 75% de concentración del extracto. Por el contrario, la media más baja en halos de inhibición (8,34) corresponde al grupo con solo 5% de concentración del extracto. Se aprecia, además, que los grupos con concentraciones de 15% y 30% del extracto presentan promedios bastante similares (10,83 y 12,94, respectivamente). De otro lado, el valor estadístico de la prueba de ANOVA ( $F = 38,483$ ; Significación = 0,000) indica que las diferencias en las medias de halos de inhibición entre grupos son significativas al nivel de  $p < 0,01$ .

**Decisión:** Por consiguiente, se rechaza la hipótesis nula.



**Gráfico 2.** Promedios de halos de inhibición de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans*

Promedios de los halos de inhibición en las cepas de *Candida albicans* como efecto de las concentraciones del extracto etanólicos de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera.

**TABLA 8. Método de DSH de Tukey de las medias de halos de inhibición en las cepas de *Candida albicans*.**

Comparaciones múltiples				
(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
5%	Control	<b>-35,41200*</b>	3,298	0,000
15%	Control	<b>-32,92600*</b>	3,298	0,000
30%	Control	<b>-30,81600*</b>	3,298	0,000
75%	Control	<b>-21,74400*</b>	3,298	0,000

\* Significativo al nivel de  $p < 0,05$ .

Se observa en la tabla 8 que hay diferencias significativas de los tratamientos empleados comparados con el tratamiento del grupo de control ( $p < 0,05$ ). Donde se observa una menor diferencia de medias (-21,74400) es en el grupo del extracto con 75% de concentración. Es decir, se puede afirmar que el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, con 75% de concentración, es el más eficaz en la actividad antimicótica *in vitro* en cepas de *Candida albicans*. Las otras concentraciones de extracto (5%, 15% y 30%) registran diferencia de medias de halos de inhibición bastante similares entre sí.

**TABLA 9. Subconjuntos homogéneos según el método de DSH de Tukey de las medias de halos de inhibición en las cepas de *Candida albicans*.**

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
5%	5	8,3420	
15%	5	10,8280	
30%	5	12,9380	12,9380
75%	5		22,0100

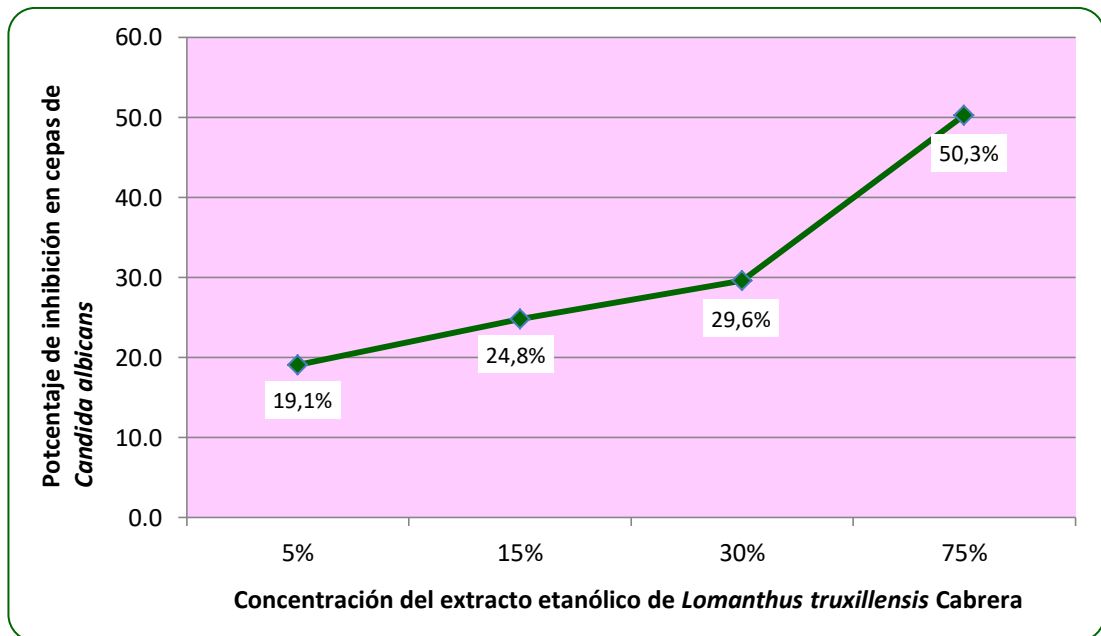
En la tabla 9 se visualizan dos subconjuntos homogéneos, según el método DSH de Tukey: un primer subconjunto donde se agrupan los tratamientos con concentraciones de 5%, 15% y 30%; el segundo subconjunto corresponde a los tratamientos con concentraciones de 30% y 75%.

En resumen, el segundo subconjunto homogéneo representa a los tratamientos más eficaces en el incremento de la media del halo de inhibición en las cepas de *Candida albicans*, sobresaliendo el grupo del extracto etanólico de *Lomanthus truxillensis* Cabrera con concentración de 75%.

**TABLA 10. Porcentaje de inhibición en las cepas de *Candida albicans* como efecto de las concentraciones del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera**

Tratamientos	Porcentaje de inhibición
5%	19,1%
15%	24,8%
30%	29,6%
75%	50,3%

Se observa en la tabla 10 que el mayor porcentaje de efecto inhibitorio (50,3%) corresponde a la cepa de *Candida albicans* que recibió tratamiento con 75% de concentración del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera; en tanto que el menor porcentaje de inhibición (19,1%) concierne a la cepa de *Candida albicans* con tratamiento al 5% de concentración del mencionado extracto.



**Gráfico 3.** Porcentajes de inhibición en las cepas de *Candida albicans* como efecto de las concentraciones del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera

**H<sub>3</sub>:** El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.

**H<sub>0</sub>:** El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera no influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.



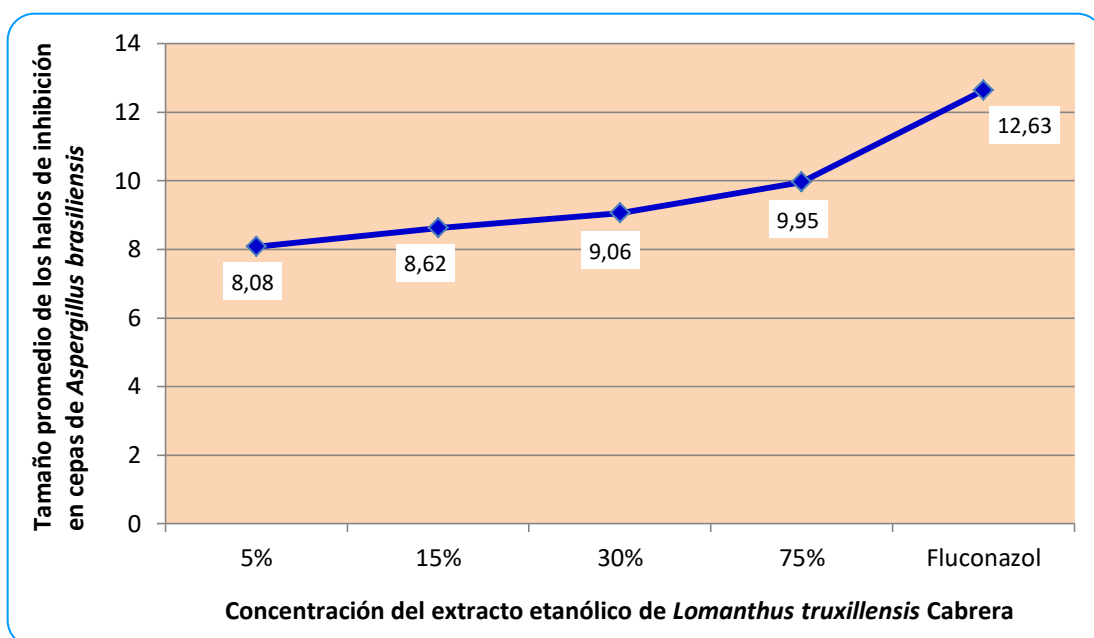
**TABLA 11. Prueba de ANOVA de la media de halos de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis*.**

Prueba de ANOVA					
Tratamiento	N	Media	Desv. estándar	F	Sig.
Control	5	12,63	2,728	<b>6,084**</b>	0,002
5%	5	8,08	0,047		
15%	5	8,62	1,616		
30%	5	9,06	1,440		
75%	5	9,95	1,021		

\*\* Significativo al nivel de  $p < 0,01$ .

En la tabla 11 se aprecia que la media más alta de halos de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis* (12,63) se mantiene en el grupo de control, en el que se aplicó fluconazol como antimicótico. Sin embargo, entre las concentraciones de los extractos de *Lomanthus truxillensis* Cabrera la mayor medición media (9,95) se registra en el grupo con 75% de concentración del extracto. Asimismo, la media más baja en halos de inhibición (8,08) corresponde al grupo con solo 5% de concentración del extracto, que se diferencia del grupo control, pero no de las otras concentraciones. Se aprecia, además, que los grupos con concentraciones de 15% y 30% del extracto presentan promedios bastante similares (8,62 y 9,06, respectivamente). De otro lado, el valor estadístico de la prueba de ANOVA ( $F = 6,084$ ; Significación = 0,002) indica que las diferencias en las medias de halos de inhibición entre grupos son significativas al nivel de  $p < 0,01$ .

**Decisión:** En consecuencia, se rechaza la hipótesis nula.



**Gráfico 4.** Promedios de halos de inhibición de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Aspergillus brasiliensis*

Promedios de los halos de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis* como efecto de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera.

**TABLA 12.** Método de DSH de Tukey de las medias de halos de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis*.

Comparaciones múltiples				
(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
5%	Control	<b>-4,54200*</b>	1,027	0,002
15%	Control	<b>-4,01000*</b>	1,027	0,007
30%	Control	<b>-3,57000*</b>	1,027	0,018
75%	Control	-2,67200	1,027	0,108

\* Significativo al nivel de  $p < 0,05$ .

Se advierte en la tabla 12 que hay diferencias significativas de los tratamientos empleados comparados con el tratamiento del grupo de control ( $p < 0,05$ ), a excepción del grupo de 75%, con el cual la diferencia (-2,67200) no es significativa, pero indicaría una mayor aproximación a la media de halo registrada por el grupo de control. En otros términos, se puede afirmar que el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, con 75% de concentración, es el más eficaz en la actividad antimicótica *in vitro* en cepas de *Aspergillus brasiliensis*. Las otras concentraciones de extracto (5%, 15% y 30%) presentan diferencias de medias de halos de inhibición bastante similares entre sí.

**TABLA 13. Subconjuntos homogéneos según el método de DSH de Tukey de las medias de halos de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis*.**

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
5%	5	8,0840	
15%	5	8,6160	
30%	5	9,0560	
75%	5	9,9540	9,9540

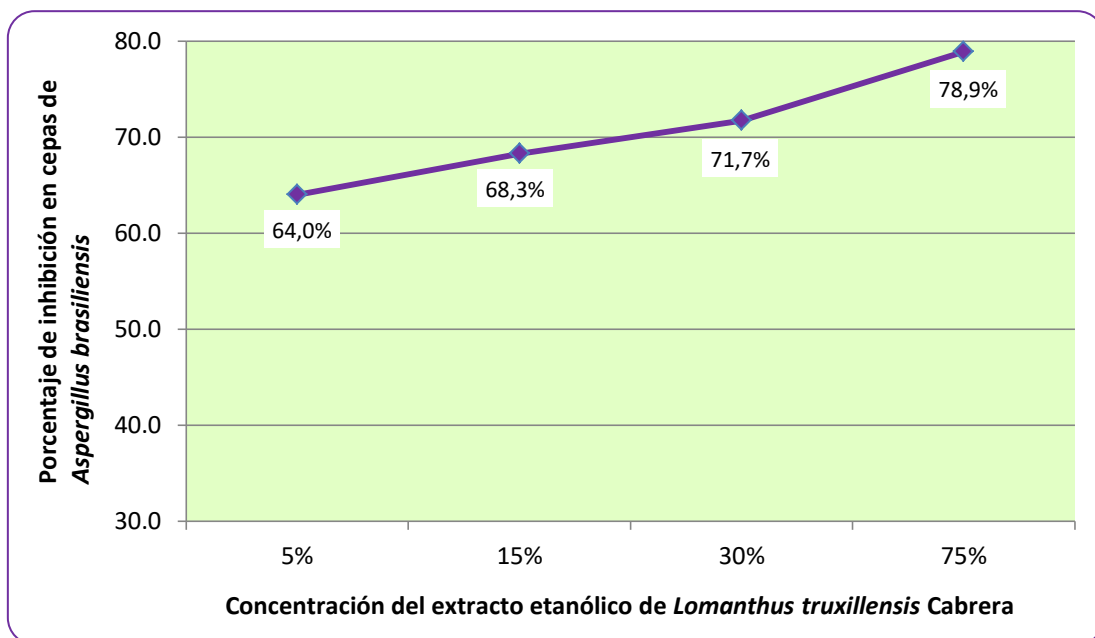
En la tabla 13 se configuran dos subconjuntos homogéneos, según el método DSH de Tukey: un primer subconjunto donde se visualizan los tratamientos de los extractos con concentraciones de 5%, 15% y 30%; el segundo subconjunto consta de un solo tratamiento, el del extracto con concentración del 75%.

En resumen, el segundo subconjunto homogéneo representa al tratamiento más eficaz en la actividad antimicótica *in vitro* en cepas de *Aspergillus brasiliensis*, con la aplicación del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en concentración de 75%.

**TABLA 14. Porcentaje de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis* como efecto de las concentraciones del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera**

Tratamientos	Porcentaje de inhibición
5%	64,0%
15%	68,3%
30%	71,7%
75%	78,9%

Se aprecia en la tabla 14 que el mayor porcentaje de efecto inhibitorio (78,9%) corresponde a la cepa de *Aspergillus brasiliensis* que recibió tratamiento con 75% de concentración del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera; mientras que el menor porcentaje de inhibición (64,0%) concierne a la cepa de *Aspergillus brasiliensis* con tratamiento al 5% de concentración del mencionado extracto.



**Gráfico 5. Porcentajes de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis* como efecto de las concentraciones del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera**

### 4.3 Discusión de Resultados

Los resultados obtenidos con la prueba de ANOVA indican que existen diferencias significativas entre los extractos a diferentes concentraciones (5%, 15%, 30% y 75%), en comparación con el grupo de fluconazol. Es decir, se ha logrado probar la efectividad del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en el incremento de diámetro del halo de inhibición en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*. Cabe mencionar que donde se observa un mayor desarrollo del halo de inhibición es en las cepas de *Candida albicans*, en comparación con el halo de inhibición en las cepas de *Aspergillus brasiliensis*. Asimismo, se puede afirmar que la actividad antimicótica alcanza su pico máximo con el extracto en concentraciones de 75%.

Marcos A., Mendieta L. (2015)<sup>11</sup> Aplicaron concentraciones de 5%, 15%, 30% del extracto hidroetanólico de las hojas de *Senecio truxillensis* Cabrera como resultado a la concentración de 30% fue la que presentó mayor porcentaje de inhibición para *Staphylococcus aureus* con 81.9% y para *Escherichia coli* 69.3%.

Por otro lado en la determinación de la concentración fungicida para el conteo de las Unidades Formadora de Colonias (UFC) se observa que hay diferencia significativa entre el grupo que recibió tratamiento de fluconazol y el que no recibió, siendo el grupo que recibió tratamiento el promedio de colonia formada fue  $46 \times 10^{-8}$  y el que no recibió fue de  $77 \times 10^{-8}$  frente a cultivo de *Candida albicans* y para el grupo con tratamiento el promedio de colonia formada fue  $37 \times 10^{-8}$  y el que no recibió fue de  $76 \times 10^{-8}$  frente al cultivo de *Aspergillus brasiliensis*. Con lo que respecta al extracto etanólico en sus diferentes concentraciones se observó que las diferencias son altamente significativas ya que no se formaron Unidad Formadora de Colonia (UFC) puesto que afirma a nuestra investigación demostrando que el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera posee efecto inhibitorio significativamente en cuatro diferentes concentraciones 5% 15% 30% y 75% frente a cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*

presentando una concentración mínima inhibitoria en la concentración al 5% ya que no se evidenció UFC a partir de dicha concentración. Según Castañeda J. (2016)<sup>99</sup> en la tesis “Efecto antifúngico del extracto etanólico de las semillas de *Foeniculum vulgare Mill* (hinojo) sobre cepa *Candida albicans* ATCC 10804 *in vitro*” ellos también realizaron concentraciones al 25%, 50%, 75%, 100% donde la concentración fungicida se obtuvieron resultados que dieron que el extracto a dichas concentraciones tuvieron efecto antifúngico. Se observó el crecimiento de la cepa *Candida albicans* ATCC 10804 probados en el fluconazol teniendo un promedio de  $1.318 \times 10^4$  unidades formadoras de colonias (UFC), que nos indica la resistencia al fármaco.

En lo concerniente a la resistencia del fluconazol según algunos autores como Zuluaga A., et al. (2010)<sup>100</sup>, tras un estudio que realizaron fue determinar la frecuencia y la sensibilidad frente a fluconazol y al voriconazol en separación de la especie *Candida spp* que fueron provenientes de pacientes en UCI como resultado un 11,9% que resultó sensible de acuerdo a la dosis y un 9,8% fue resistente al fluconazol.

Ortigoza E., Arroyo D. (2014)<sup>101</sup> se efectuó un estudio que fue descriptivo y retrospectivo siendo los cultivos de aspirado bronquial y hemocultivos que presentaron crecimiento de *Candida albicans* en el año 2012. Obteniendo las concentraciones inhibitorias mínimas con fluconazol entre otros, se puso percibir la resistencia a la *C. albicans* con un 6,1%, debido a lo cual se debe llevar a cabo estudios de susceptibilidad en los antifúngicos para tomar buenas decisiones terapéuticas que ayudarán al tratamiento de los pacientes por el bajo costo.

En referencia a la primera hipótesis específica, mediante la marcha fitoquímica se logró identificar los fitoconstituyentes que componen las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, tales como compuestos fenólicos, aminoácidos, taninos, alcaloides, flavonoides, etc. Un trabajo similar es el realizado por Malca J., Rodríguez C. (2017)<sup>12</sup>, quienes encontraron en el extracto acuoso de la planta descrita fitoconstituyentes

como: alcaloides, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos y flavonoides. Además, detectaron la presencia de fitoconstituyentes como: lactonas, esteroides, alcaloides, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, aminoácidos y antocianidinas. Y por último, en el extracto diclorometánico reportaron fitoconstituyentes como: ácidos grasos, alcaloides y esteroides.

Por su parte, Marcos A., Mendieta L. (2015)<sup>11</sup> hallaron en las hojas de *Senecio truxillensis* Cabrera una gran variedad de fitoconstituyentes como azúcares reductores, lactonas, triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, aminoácidos, flavonoides, antocianidinas y alcaloides.

En cuanto a la segunda hipótesis específica, los resultados muestran la eficacia del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en la actividad antimicótica *in vitro* en cepas de *Candida albicans*, que presentaron una mayor sensibilidad frente al extracto de concentración al 75%, con un crecimiento promedio del halo de inhibición de 22,01 mm. Marcos A., Mendieta L. (2015)<sup>11</sup> aplicaron concentraciones de 5% p/v, 15% p/v y 30% p/v del extracto hidroetanólico de las hojas de *Senecio truxillensis* Cabrera, las que inhibieron el crecimiento bacteriano de las cepas estudiadas, siendo la concentración de 30% p/v, la que presentó un mayor porcentaje de inhibición, con 81.9% para *Staphylococcus aureus* y 69.3%, para *Escherichia coli*, encontrándose diferencias estadísticamente significativas con  $p < 0.05$ .

Respecto a la tercera hipótesis específica, los resultados comprueban la eficacia del extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en la actividad antimicótica *in vitro* en cepas de *Aspergillus brasiliensis*, que, como en el caso anterior, presentaron una mayor sensibilidad frente al extracto de concentración al 75%, con un crecimiento promedio del halo de inhibición de 9.95 mm. Aunque no se han publicado estudios a nivel nacional con el extracto de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, se dispone de otros trabajos que investigaron sobre la actividad antimicótica de otras plantas. Tal es el caso de Dueñas M. (2013)<sup>13</sup>, quien concluyó que

el aceite esencial de la muña *Minthostachys acris* Schmidt-Leb tiene efecto antimicótico sobre *Sporothrix schenckii* en sus dos fases, viendo que es más susceptible la fase levaduriforme.

También se dispone de la investigación de Malca J., Rodríguez C. (2013)<sup>12</sup>, quien estudió la actividad antimicótica del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Clibadium surinamense* L. Huaca. Demostró que los factores de concentración y tiempo de incubación influyen en la sensibilidad de los hongos filamentosos (*Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*) a los antifúngicos. Observaron que el extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Clibadium surinamense* L. “huaca” presentó actividad antifúngica *in vitro* sobre *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*.

Rivera C. (2007)<sup>15</sup> Investigó en Guatemala sobre la actividad de seis extractos de hierbas usadas medicinalmente contra *Fonsecaea pedrosoi* y *Sporothrix schenckii*. Encontró que *Dorstenia contrajerva* y *Hedyosmum mexicanum* tuvieron actividad antifúngica positiva contra la fase micelial de *S. schenckii* a 0.1 mg/mL y 0.05 mg/mL respectivamente; el extracto de *Baccharis trinervis* no presentó actividad antifúngica positiva contra *F. pedrosoi* a concentraciones menores del punto de corte. En suma, el extracto etanólico de *Dorstenia contrajerva* presentó la mejor actividad antifúngica contra la fase levaduriforme de *S. schenckii* (0.1 mg/mL).



## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

- 1) Los resultados indican que el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera presenta tipos de metabolitos responsables de la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*. Siendo los alcaloides, flavonoides y triterpenos o esteroides los posibles responsables de la actividad antimicótica.
- 2) El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, *in vitro* es sumamente sensible al 30% con un 29.6% y al 75% con un 50.3%.
- 3) El extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro* es sumamente sensible al 30% con un 71.7% y al 75% con un 78.9%.

## 5.2 Recomendaciones

- 1) Realizar ensayos experimentales de réplica con la aplicación de extractos en concentraciones al 100%, a fin de ampliar la validez interna de los resultados obtenidos en este campo específico.
- 2) Desarrollar otras investigaciones referentes a la seguridad del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera.
- 3) Profundizar en el aislamiento, identificación y caracterización de los compuestos con actividad farmacológica presentes en las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, mediante técnicas analíticas tales como: análisis de cromatografía de gases y masas, análisis espectrales de resonancia magnética nuclear y análisis infrarrojo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. D.W. Warnock Trends in the epidemiology of invasive fungal infections Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi. (2007); 48(1):1-12.
2. Lopez SN, Castelli MV, Zacchino SA, Dominguez JN, Lobo G, Charris-Charris J, Cortes JC, Ribas JC, Devia C, Rodríguez AM, Enriz RD. In vitro antifungal evaluation and structure-activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall. Bioorg Med Chem. 2001;9(8):1999-2013
3. WHO/CDS/CSR/DRS. Surveillance standards for antimicrobial resistance. Suiza. World Health Organization, 2002.
4. Navarro García VM, Gonzales A, Fuentes M, Aviles M, Rios MY, Zepeda G, Rojas M. Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants. J Ethnopharmacol.2003; 87 (1): 85-89.
5. Desmarchelier C, Witting F. Syxty medicinal plants from the Peruvian Amazon, ecology, ethnomedicine and bioactivity 1era ed. Lima; Bio2000, 2000.
6. Escamilla B, Moreno P. Plantas medicinales de la Matamba y el Piñoñal, municipio de Jamapa, Veracruz. México: D.R. © Instituto de Ecología A. C. (INECOL); 2015.
7. Carranza D, Huayanay V. Determinación de metabolitos secundarios presentes en el tallo de *Croton alnifolius* L. (Tunga). [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. 2009. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4852/Carranza%20Vega%20Dhaily%20Elaine.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
8. Brito B, Arana C. Corotipos preliminares del Perú basados en la distribución de la familia *Asteraceae*. Argentina: Darwiniana.(2014) 2(1):39-56  
Disponible en: <http://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/553>
9. Pelter P, Nordenstam B, Kadereit J, Watson L. An ITS Phylogeny of Tribe *Senecioneae* (*Asteraceae*) and a New Delimitation of *Senecio* L. Germany.Taxon,2007; 56(4):1077

- Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/233716802>
10. Pelser P, Nordenstam B, Watson L. *Lomanthus*, a new genus of the Compositae-Senecioneae from Ecuador, Perú, Bolivia and Argentina. *Comp. Newsl*, 47; 2009:33-41.  
Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/247158929\\_Lomanthus\\_a\\_new\\_genus\\_of\\_the\\_CompositaeSenecioneae\\_from\\_Ecuador\\_Peru\\_Bolivia\\_and\\_Argentina](https://www.researchgate.net/publication/247158929_Lomanthus_a_new_genus_of_the_CompositaeSenecioneae_from_Ecuador_Peru_Bolivia_and_Argentina)
  11. Marcos A, Mendieta L. Determinación de fitoconstituyentes del extracto hidroetanólico de las hojas de *Senecio truxillensis Cabrera* y su efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. 2015. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3660/Marcos%20Rodriguez%20Akemy%20Matilde.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  12. Malca J., Rodríguez C. Identificación preliminar de fitoconstituyentes presentes en las hojas de *Lomanthus truxillensis* procedentes del valle El Platanar de la provincia de Otuzco, región de La Libertad. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. 2017. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/8517/Malca%20Chamache%20Junior%20Antonio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  13. Dueñas Mendoza M. "Actividad antimicótica in vitro del aceite esencial de la muña *Mithostachys acris schmidt-leb. (Lamiaceae)* sobre *Spotothrix schenckii*" [tesis doctoral]. Perú: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2013.
  14. Rodríguez C, Ríos M. "Actividad antimicótica in vitro del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Clibadium surinamense* L. (Huaca) [tesis]. Perú. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2013. Disponible en: [http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3683/Claudia\\_Tesis\\_Titulo\\_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3683/Claudia_Tesis_Titulo_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  15. Rivera Castellanos M. Actividad de seis extractos de hierbas usadas medicinalmente contra *Fonsecaea pedrosoi* y *Sporothrix schenckii*. [tesis]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2007. Disponible en

[http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Juek0QJX85wJ:biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2489.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Juek0QJX85wJ:biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2489.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe)

16. Lizcano Gonzalez M. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*) contra *Botrytis cinérea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*. [tesis]. Colombia: Universidad Javeriana Bogotá; 2007.  
Disponibile en  
<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis100.pdf>
17. Gaitán Fernández I. Actividad de doce plantas nativas guatemalecas contra *Sporothrix schenckii*. [tesis]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2005.  
Disponibile en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2289.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2289.pdf)
18. Soriano M, Bonilla P, Arroyo J, Pereyra S. Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed. Trabajo de investigación. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. 2004. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/vol15\\_n3/pdf/a04.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/vol15_n3/pdf/a04.pdf)
19. Gonzales P. Riqueza y distribución de *Asteraceae* en el departamento de Lima (Perú) Arnaldoa. (2016); 23 (1): 111 – 134.
20. Tamariz C, Infantas D, Moreno P. Pruebas fitoquímicas y biológicas de algunas especies de *Senecio* del Parque Nacional Huascarán. [tesis]. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2001.
21. Cosco Robles D. Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* y de flora mixta salival por acción del aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* manzanilla. [tesis]. Perú: Universidad Mayor de San Marcos; 2010. Disponible  
<http://www.cop.org.pe/bib/tesis/DANYALEJANDROCOSCOROBLES.pdf>
22. Macheix J, Fleuriet A, Billiot J. Fruit Phenolics. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc, 1990.
23. Kuklinski C. Farmacognosia. Barcelona: Omega, 2000.
24. Martínez Flórez J, González Gallego J, Tuñón J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp. (2002) 17 (6) 271-278.

25. Taiz L., Zeiger E. Plant physiology. 3era edition. Reino Unido: Sunderland: Sinauer Associates; 2002.
26. Olsson, L. C., Veit M., Weissenbock, G., Bornman, J.F. Differential flavonoid response to enhanced UV-B radiation in *Brassica napus*. *Phytochemistry* (1998); 49 (4):1021-1028.
27. Pacheco Varas D. Analisis de flavonoides en plantas medicinales del sur de Chile con técnica Hplc [tesis]. Chile: Universidad Austral de Chile; 2004.
28. Tereschuk M, De Figueroa L, Abdala L. Flavonoids from Argentine Tagetes (*Asteraceae*) with Antimicrobial Activity. *Health microbiology protocols* J.F. Spencer and A.L. Ragout de Spencer (2002): 1064-3745.
29. Arango Acosta G. "Alcaloides y compuestos nitrogenados" [tesis]. Colombia: Universidad Antioquia; 2008.
30. Macel M, Vrieling K, Klinkhamer, PGL Variation in pyrrolizidine alkaloid patterns of *Senecio jacobaea*. *Phytochemistry* (2004); 65: 865-873.
31. Villarroe L, Torres R, Urzúa A, Modak B, Henríquez J, Salgado I. *Rev. Latinamer. Quim* (1997); 25:109.
32. Huan J, Miranda C, Buhler D, Cheeke P; *Toxicology. Lett.* (1998); 99, 127-137.
33. Parkash A, Pereira T, Reilly P, Seawright A, *Mutat. Res* (1999); 443, 53 - 67.
34. Chojkier, M. Hepatic sinusoidal-obstruction síndrome: toxicity of pyrrolizidine alkaloids. *J. Hepatol.* (2003); 39, 437-66.
35. Estrada A, Katselis GS, Laarveld B, Barl B. Isolation and evaluation of immunological adjuvant activities of saponins from *Polygala senega* L. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2000; 23(1): 27-43.
36. Wallach, O. Zur kenntnis der terpepe und ätherischen öle. *Liebigs Annalen der Chemie.* (1887); 239,1-54.
37. Palá Paul J. Contribución al conocimiento de los aceites esenciales del género "*Eryngium*", en la península Ibérica. [tesis]. España: Universidad Computense de Madrid; 2002.
38. Rainer W. Bussmann, Douglas Sharon. Plantas Medicinales de los Andes y Amazonia, La Flora Mágica y Medicinal Del Norte del Perú. Lima; Noviembre, 2015.

39. Assem S., Gamal D. y Wink M. Chemical composition and biological activity of the essential oils *Senecio aegyptius* var. *Discooides boiss.* Z. Naturforsch (2002); 57,434-439
40. Zellagui A., Tijani S., Gherraf N. y Rhouati S. Phytochemical screening and evaluation of antibacterial activity of alkaloids extract of *Senecio delphinifolius* Vahl. Scholars Research Library. Der Pharma Chemica (2012); 4(5):2080-2084
41. Bhakuni D, Bittner M, Marticorena C, Silva M. Screening of Chilean Plants for Antimicrobial Activity. Lloydia (1974); 37(4):621-632.
42. Deuschle R, Camargo T, Francescato L. Antimicrobial activity of *Senecio desiderabilis* vellozo (*Asteraceae*). Acta Farm. Bonaerense (2006); 25 (3):356-359.
43. Steenkamp V., Stewart JM., Van der Merwe S., Zujerman M. y Crowter N. 2001. The effect of *Senecio boissieri* is a new *jacaranone* derivative. Fitoterapia (2001); 71:91-93.
44. González Villa A. Obtención de aceites esenciales y extracto etanólicos de plantas de Amazonas". [tesis]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 2004.
45. Moreira, L. W. La experiencia brasileña en biocombustibles: Guadalajara Downstream Area, Petrobras, 2008.
46. Landa J. Programa de Energías Renovables de los Estados Unidos de Norteamérica. Estados Unidos: United States Agency International Development, 2008.
47. Tobón J. Los Biocombustibles en Colombia. Guadalajara: Congreso Internacional de Biocombustibles, 2007.
48. Rams-Martinez, SL (T3 Química) Etanol Ficha de datos de seguridad (FDS) Rev. T3 Química. 2007; 1-3.
49. Bruneton, J. Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales. 2da. España: Acribia; 2001.
50. Miranda M, Cuellar A. Mención en Productos Naturales y Terapéuticos. Cuba: Editorial Universidad de la Habana, 2002.
51. Putzke J, M. Putzke. Os reinos dos fungos. 3 ed. Brasil: Edunisc, Santa Cruz do Sul; 1998.

52. Molinaro E, Caputo L, Amendoeira R. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Sade Joaquim Venancio, 2009.
53. Pereira E., M. De M. Sarquis, R. Ferreira Keppler, N. Hamada Y. ALENCAR. Filamentous Fungi Associated with Mosquito Larvae (Diptera: Culicidae) in Municipalities of the Brazilian Amazon. *Neotropical Entomology* (2009);38(3):352-359
54. Pardi, G. Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. *Acta Odontológica Venezolana* (2002); 40 (1): 1-16.
55. USP 38 NF-33; James P. Agalloco, M.S., M.B.A.; Dilip Ashtekar, PhD.; Anthony M. et al Revisión de la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP 38) y la 33.a edición del Formulario Nacional (NF 33) Estados Unidos, 2015
56. Liébana, J. Microbiología oral. Barcelona: Mc Graw-Hill-Interamericana, 2002.
57. Pontón J, Moragues D, Gené J, Guarro J, Quindós G. Hongos y actinomicetos alergénicos. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología, 2002.
58. Palacio A, Villar J. y Alhambra A. Epidemiología de las candidiasis invasoras en población pediátrica y adulta. *Rev. Iberoam Micol* (2009); 26:2-7.
59. Martin S, Vázquez M, Herrero A, Núñez E, Gallegos A. Infecciones por *Aspergillus spp.* XI Curso de Enfermedades Infecciosas. España: Visión Libros, 2013.
60. Brochard G, Le Bâcle C. Mycotoxines en milieu de travail. I. Origine et propriétés toxiques des principales mycotoxines. *INRS* (2009); 3: 1-25.
61. Quinn P, Markey Q, Leonard F, Fitzpatrick E, Fanning S. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2ed. Iowa, Estados Unidos: Wiley-Blackwell; 2011.
62. McVey D, Kennedy M, Chengappa M. *Veterinary Microbiology*. 3ed. Iowa, Estados Unidos: Jhon Wiley&Son, 2013.
63. Markey B, Leonard F, Archambault M, Cullinane A. *Clinical Veterinary Microbiology*. 2 ed. St. Lois, Estados Unidos: Mosby Elsevier, 2013.



64. Quinn P, Markey B, Leonard F, Fitzpatrick E, Fanning S. Concise Review of Veterinary Microbiology. 2 ed. Iowa, Estados Unidos: Jhon Wiley & Sons, 2015.
65. Meijer, M. Growth and hydrolase profiles can be used as characteristics to distinguish *Aspergillus niger* and other black *Aspergilli*. Stud. Mycol (2011); 69 (1): 19-30.
66. Palanisamy Manikandan, János Varga, Sándor Kocsubé et al Keratitis caused by the recently described new species *Aspergillus brasiliensis*: two case reports. Journal of Medical Case Reports (2010); 4: 68.
67. Loeffler J, Stevens D.A. Antifungal drug resistance. Clin Infect Dis (2003); 36:31-41
68. Wheat J. Endemic mycoses in Aids: A clinical review. Clin Microbiol Rev. (1995); 8(1): 146–159.
69. Pere S, Patterson TF. Antifungal resistance in pathogenic fungi. Clin Infect Dis (2002); 35 (9):1073-80.
70. Ghannoum MA, Rice LB. Antifungal agents: Mode of action, mechanisms, of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. Clin Microbiol Rev (1999); 12 (4):501-17.
71. Aveñanos M. Introducción a la Química Farmacéutica. 2da ed. Madrid: Elsevier; 1993.
72. Diomedi A. Nuevos antifúngicos: las equinocandinas. Rev. Chilena Infectol (2004); 21(2):89-101.
73. Arenas E. Antifúngicos de uso clínico. Análisis de un laboratorio de Micología. Rev. Ciencia y Trabajo (2005); 15(1):52-67.
74. Montero G , Ortiz L , Garmendia G, Jiménez F. Life-threatening adverse event after amphotericin B lipid complex treatment in a patient treated previously with amphotericin B deoxycholate. Clin. Infect Dis (1998); 26(4):1016.
75. Hiemenz J, Walsh J. Lipid formulations of amphotericin B: Recent progress and future directions. Clin Infect Dis (1996); 22: 133-44.
76. Johnson E, Ojwang J, Szekely A, Wallace T, Warnock D. Comparison of in vitro antifungal activities of free and liposome-encapsulated nystatin with those of four amphotericin B formulations. Antimicrob Agents Chemother (1998); 42(6): 1412–1416.

77. Berry AJ, Rinaldi G, Graybill R. Use of high-dose fluconazole as salvage therapy for cryptococcal meningitis in patients with AIDS. *Antimicrob Agents Chemother* (1992); 36(3):690.
78. Wasan K, Kennedy M, Cassidy S, Ramaswamy R, Holtorf L, Chou JW, Pritchard P. Pharmacokinetics, distribution in serum lipoproteins and tissues, and renal toxicities of amphotericin B and amphotericin B lipid complex in a hypercholesterolemia rabbit model: Single-dose studies. *Antimicrob. Agents Chemother* (1998); 42(12):3146-3152.
79. Pea F, Furlanut M. Pharmacokinetic aspects of treating infections in the intensive care unit. Focus on drug interactions. *Clin Pharmacokinet* (2001); 40(11):833-68.
80. Ghannoum M., Kuhn D. Voriconazole. Better chances for patients with invasive mycosis. *Eur J Med Res.* (2002); 7(5):242-56.
81. Martin M. (1999) The use of fluconazole and itraconazole in the treatment of *Candida albicans* infections: A review. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44(4):429-37.
82. Rex J, Pappas P, Karchmer A, cols. A randomized and blinded multicenter trial of high-dose fluconazole plus placebo versus fluconazole plus amphotericin B as therapy for candidemia and its consequences in non-neutropenic subjects. *Clin Infect Dis* (2003); 36(10):1221-1228.
83. Tabares F. "Evaluación *in vitro* de diferentes compuestos químicos agrícolas para el control de los hongos *Colletotrichum gloeosporioides* y *C. acutatum*, causantes de la antracnosis de los cítricos". [tesis]. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana, 2002.
84. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, Approved Standard, Second Edition (2002); 22 (6):1-107.
85. Estrada P. Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de Romero (*Rosmarinus officinalis*) y Tomillo (*Thymus vulgaris*). [tesis]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador; 2010.

- 86.** Ruiz, G. M, Susunaga, S. C. Actividad antimicrobiano presente en partes aéreas de las especies de *Burera simaoruba* y *Bursera graveolens* (*Burseraceas*), frente a microorganismos como: *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia caratovora*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma viride* y *Botrys cinérea*. [Tesis]. Bogotá: Pontificia Universidad Javerian; 2000.
- 87.** Toledo Nauto M. “Estudio fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de “*Triumfetta semitriloba*” Jacq (Motecepo) y análisis de parámetros reologicos del mucilago” [tesis].Perú. Universidad de Mayor de San Marcos. 2015.
- 88.** Vargas A, Villamizar D. “Estudio preliminar de la producción, extracción y purificación de T2 toxina por *Fusarium sporotrichioides* NRRL 3299 en dos medios sintéticos”. [tesis]. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana, 2005.
- 89.** Dixon DM, Fromtling RA. Morphology, Taxonimy and Classification of the Fungi. En: Ballows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds). Manual of Clinical Microbiology. 5 ed. Washington. American Society for Microbiology, 1991.
- 90.** Calderón C, Medicina Tradicional. Guatemala, OPS/OMS, 2011. Disponible en:  
<http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2015/09/02/Lopez-Mirtala.pdf>
- 91.** Merck M. Manual de Medios de Cultivo. Alemania: Darmstadt, 2004.
- 92.** Lock, Olga. Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. 2da edición. Perú. Pontifical Universidad Católica del Perú: 1994.
- 93.** International commission on Microbial specifications for Food, of the international Union of Biological Societies. (ICMSF).Microorganismos de los alimentos: su significado y métodos de enumeración. 2da edición. España. Editorial Acribia S.A Zaragoza; 2000.
- 94.** Martin A, Bustamante P, Chun A. Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences, 4ed. Philadelphia. Lea & Febiger; 1993.
- 95.** Mukherjee P. Evidence-based validation of herbal medicine. Amsterdam: Elsevier, 2015.



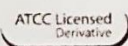

96. Bodeker, G. who global atlas of traditional, complementary and alternative medicine. 2ed. United State: World health organization; 2005.
97. Mostacero J. Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. 1era edición. Trujillo: Concytec; 2002.
98. Duraffourd C. Lapraz J. Cuaderno de Fitoterapia Clínica. Editorial Masson; Francia 1983.
99. Castañeda Juan Puelles. Efecto antifúngico del extracto etanólico de las semillas de *Foeniculum Vulgare* Mill. sobre cepa *Candida albicans* ATCC 10804 *in vitro*. [Tesis]. Perú: Universidad Privada Antenor Orrego; 2016.
100. Zuluaga A, Bedout C, Agudelo C, Hurtado H, Arango M, et al. Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de especies de *Candida* aisladas de pacientes provenientes de unidades de cuidados intensivos. Rev. Iberoam Micol (2010);27(3):125.
101. Ortigoza E, Arroyo D. Susceptibilidad in vitro de las especies de *Candida* a los antifúngicos en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional de Occidente. Med Int Méx (2014); 30:373-380.

## ANEXOS

### Anexo N°1: Certificación Botánica de la Especie *Lomanthus truxillensis* Cabrera. Emitida por el Biólogo Hamilton Beltrán.

 VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO	 MUSEO DE HISTORIA NATURAL
<b>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS</b> Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO	
<b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b>	
<i>"Año del Buen Servicio al Ciudadano"</i>	
<b>CONSTANCIA N° 287-USM-2017</b>	
<p>EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>	
<p>La muestra vegetal (planta completa) recibida de <b>Roxana Anselmo Ramos y Raquel Elizabeth Flores Huertas</b>; estudiantes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ha sido estudiada y clasificada como: <b><i>Lomanthus truxillensis</i></b> (Cabrera) B. Nord. <b>Sin.= <i>Senecio truxillensis</i></b> Cabrera; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).</p>	
<p><b>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</b></p>	
<p><b>CLASE: MAGNOLIOPSIDA</b></p>	
<p><b>SUBCLASE: ASTERIDAE</b></p>	
<p><b>ORDEN: ASTERALES</b></p>	
<p><b>FAMILIA: ASTERACEAE</b></p>	
<p><b>GENERO: <i>Lomanthus</i></b></p>	
<p><b>ESPECIE: <i>Lomanthus truxillensis</i></b> (Cabrera) B. Nord. <b>Sin.= <i>Senecio truxillensis</i></b> Cabrera</p>	
<p>Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago</p>	
<p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.</p>	
<p>Lima, 28 de noviembre de 2017</p>	
<p> <b>Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA</b> JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)</p>	
	
<p>ACE/ddb</p>	
<p>Av. Arenales 1256, Jesús María Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú</p>	<p>E-mail: <a href="mailto:museohn@unmsm.edu.pe">museohn@unmsm.edu.pe</a> <a href="http://museohn.unmsm.edu.pe">http://museohn.unmsm.edu.pe</a></p>
<p>Teléfono: 619-7000 anexo 5703</p>	

**Anexo N°2: Certificado de Análisis del Microorganismo *Candida albicans*  
ATCC 10231**

	
<b>Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release</b>	
<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Candida albicans</i> Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-767 Reference Number: ATCC® 10231™* Purity: Pure Passage from Reference: 2	<b>Expiration Date:</b> 2019/4/30 <b>Release Information:</b> Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2017/6/9
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. <b>Microscopic Features:</b> Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	<b>Medium:</b> Nutrient <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamyospore production: positive  <div style="text-align: right;">                       Amanda Kuperus                      Quality Control Manager                      AUTHORIZED SIGNATURE                 </div>
<small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiology, Inc. and are licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
 <b>ACCREDITED</b> TESTING CERT #2655.01	<small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005</small>
<small>© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303</small>	
<small>Page 1 of 1</small>	<small>DOC.286</small>

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.



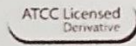

Sample Name: Candida albicans  
 Sample Description: 0443  
 Sample ID: 443-767  
 Sample Creation Date/Time: 2017-06-05T14:20:02.173 CC  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D3 (+++)(A)	443-767	Candida albicans	2.17

Comments:

N/A

**Anexo N°3: Certificado de Análisis del Microorganismo *Aspergillus brasiliensis*  
ATCC 16404**

	
<b>Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release</b>	
<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Aspergillus brasiliensis</i> Catalog Number: 0392 Lot Number: 392-708 Reference Number: ATCC® 16404™* Purity: Pure Passage from Reference: 2	<b>Expiration Date:</b> 2019/4/30 <b>Release Information:</b> Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2017/7/20
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Rapidly growing colonies which are initially white or pale yellow, quickly become black with conidia (spore) production. Reverse is pale yellow.	<b>Medium:</b> PDA
<b>Microscopic Features:</b> Chains of small conidia which arise from short sterigmata arranged radially over the surface of the vesicle	<b>Method:</b> Lactophenol Blue (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF See attached ID System results document.	
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	
<small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologies, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
 <b>ACCREDITED</b> TESTING CERT #2655.01	<small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>
<small>© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303      Page 1 of 1      DOC.286</small>	



**Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



**Meaning of Score Values**

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

**Meaning of Consistency Categories (A - C)**

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Aspergillus brasiliensis  
 Sample Description: 0392  
 Sample ID: 392-708  
 Sample Creation Date/Time: 2017-07-17T14:39:05.095 CC  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A2 (+++)(B)	392-708	Aspergillus brasiliensis	2.07

Comments:

N/A

**Anexo N°4:** Muestra recolectada de la especie *Lomanthus truxillensis* Cabrera, depositada en el Herbarium Truxillense (HUT) con el código N° 59265.




## Anexo N°5: Matriz de Consistencia

ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera EN CEPAS DE <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 Y <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, IN VITRO						
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGÍA	INTRUMENTOS
			VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	ENFOQUE	
¿El extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera tendrá actividad antimicótica en cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 y <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, in vitro?	Determinar si el extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera tiene actividad antimicótica en cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 y <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, in vitro.	El extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera tiene actividad antimicótica en cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 y <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, in vitro.	Extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera	<ul style="list-style-type: none"> <li>□ Metabolitos secundarios</li> <li>□ Concentraciones del extracto</li> <li>□ Tiempo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>□ Cualitativo</li> </ul>	<p>TÉCNICA: Observación</p> <p>INSTRUMENTO: Ficha de recolección de datos Tablas y gráficos analizados por el programa estadístico SPSS</p>
					DISEÑO	
					<ul style="list-style-type: none"> <li>□ Experimental</li> </ul> <p>Población vegetal: <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera Muestra vegetal: Hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> C.</p>	
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES	ENFOQUE	
¿Qué tipo de metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera serían los posibles responsables de la actividad antimicótica en cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 y <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, in vitro?	Determinar los tipos de metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera son los posibles responsables de la actividad antimicótica en cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 y <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, in vitro.	Los tipos de metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera son responsables de la actividad antimicótica en cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 y <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, in vitro.	Actividad antimicótica en cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Aspergillus brasiliensis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>□ Halo de inhibición</li> <li>□ Efecto inhibitorio</li> <li>□ Porcentaje de inhibición</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>□ Cuantitativo</li> </ul>	
					DISEÑO	
<ul style="list-style-type: none"> <li>□ Experimental</li> </ul>						
¿La concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera influirá en la actividad antimicótica en cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro?	Determinar la concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera que influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro.	La concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro.				
¿La concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera influirá en la actividad antimicótica en cepas de <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, in vitro?	Determinar la concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera que influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, in vitro.	La concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera influye significativamente en la actividad antimicótica en cepas de <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, in vitro.				
					<p>Población microbiológica: <i>Candida albicans</i> y <i>Aspergillus brasiliensis</i> Muestra: 70 placas petri</p>	

**Anexo N°6:** Ficha de recolección de datos para la “Evaluación de la actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*”

N°.....



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
*Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica*

**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS**

**Para la evaluación de la actividad antimicótica del extracto de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis***

**(Juicio de expertos)**

ENSAYO FITOQUIMICO					
ENSAYO DE SOLUBILIDAD					
SOLVENTES	N-HEXANO	DICLOROMETANO	METANOL	ETANOL	AGUA
EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Lomanthus truxillensis</i>					

**METODOLOGIA:**

- Extracto etanólico seco de las hojas de *Lomanthus truxillensis*.
- Procedimiento: Se seleccionaron 5 tubos de ensayo y se procedió a agregar una alícuota del extracto etanólico seco de la especie vegetal, luego se adicionó a cada tubo un solvente diferente a analizar, se agitó y se observó los resultados.
- Solventes: Se seleccionaron 5 solventes siendo ordenados según su polaridad: n-hexano, diclorometano, metanol, etanol y agua

**LEYENDA:**

NINGUNO (-) MENOR SOLUBILIDAD (+) REGULAR  
 SOLUBILIDAD (++) MAYOR SOLUBILIDAD (+++)

---

Firma del Experto



## UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

Para la evaluación de la actividad antimicótica del extracto de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*

(Juicio de expertos)

ENSAYO FITOQUIMICO		
MARCHA FITOQUIMICA		
METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO	RESULTADO
AMINOACIDOS	Nihidrina	
TANINOS	Gelatina	
COMPUESTOS FENÓLICOS	F3CB	
ALCALOIDES	Dragendorff	
	Mayer	
	Wagner	
QUINONAS	Bortranger	
FLAVONOIDES	Shinoda	
GLICOSIDOS	Molisch	
AZUCARES REDUCTORES	Fehling A y B	
SAPONINAS	Espuma	
TRITERPENOS Y ESTEROIDES	Lieberman-Burchard	

#### METODOLOGIA:

- o Extracto etanólico seco de las hojas de *Lomanthus truxillensis*.
- o Procedimiento: En un tubo de ensayo se procedió a colocar 5 gramos de extracto seco vegetal, se adicionó etanol y se agito por 3 minutos. Se seleccionaron 12 tubos de ensayo donde se distribuyó.

#### REACTIVOS:

- o **Aminoácidos (reactivo Nihidrina):** La presencia de aminoácido es positiva si presenta coloración azul violáceo, verde. Nuestra muestra se observó un color verde claro, como resultado positivo.
- o **Taninos (reactivo Gelatina):** La presencia de precipitado blanco indica la presencia de taninos. Nuestra muestra presenta un precipitado blanco, como resultado positivo.

- o **Compuestos Fenólicos (ensayo FeCl<sub>3</sub>):** Desarrolla una coloración azul, verde intensa y rojo vino. Nuestra muestra se observó un color verde azulado, como resultado positivo.
- o **Alcaloides:**
  - **Reactivo Dragendorff:** La formación de precipitado rojo ladrillo indica presencia de alcaloides. Nuestra muestra se observó un color rojo ladrillo, como resultado positivo
  - **Reactivo Mayer:** La formación de precipitado blanco indica presencia de alcaloides. Nuestra muestra se observó un precipitado blanco lechoso, como resultado positivo.
  - **Reactivo Wagner:** Debido a la sensibilidad del reactivo, presenta alcaloides si presenta color café claro al rojo o pardo oscuro. Nuestra muestra presenta una coloración marrón, como resultado positivo.
- o **Quinonas (reactivo Borntranger):** Se considera positivo si presenta una coloración rosada, roja semi oscuro. Nuestra muestra se observa poca presencia por quinonas por tornarse una coloración marrón amarillento, como resultado negativo.
- o **Flavonoides (ensayo Shinoda):** El ensayo se considera positivo por la presencia de un anillo amarillo rojizo, coloración roja indicando presencia de flavonoides. Nuestra muestra presenta coloración rojizo, como resultado positivo.
- o **Glicósidos (reacción Molisch):** Se considera positiva si da la formación de un anillo color violeta. Nuestra muestra da positivo al observar la presencia de un anillo violáceo en la interface del tubo.
- o **Azúcares Reductores (reacción Fehling A y B):** El ensayo se considera positivo si da un precipitado rojo ladrillo. Nuestra muestra se observó precipitado rojo ladrillo, como resultado positivo.
- o **Saponinas (reacción Espuma):** El ensayo se considera positivo si se aprecia espuma en la superficie del líquido. Nuestra muestra se observó presencia de espuma, como resultado positivo.
- o **Triterpenos y Esteroides (reactivo Lieberman-Burchard):** se considera positivo si se detecta una coloración rojo (triterpenos); coloración verde (esteroides). Nuestra muestra se observó una coloración verde, como resultado positivo de esteroides.

**LEYENDA:**

AUSENCIA (-) BAJA (+) REGULAR (++) ABUNDANTE (+++)
--

---

Firma del Experto

N°.....



## UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

Para la evaluación de la actividad antimicótica del extracto de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis* – Método de Kirby-Bauer

(Juicio de expertos)

ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera POR EL METODO DE KYRBY-BAUER					
N° de placas	CONCENTRACIÓN (%) DE EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera				
	LONGITUD DE HALO DE INHIBICION (mm)				
	5%	15 %	30 %	75 %	Fluconazol
1					
2					
3					
4					
5					

#### DATOS ESPECIFICOS:

Hongo  *Candida albicans*  *Aspergillus brasiliensis*

Diámetro de halo (mm)  Extracto (5% 15% 30% 75%)

Control

\_\_\_\_\_  
Firma del Experto

N°.....



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**

*Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica*

**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS**

Para la evaluación de la actividad antimicótica del extracto de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*  
Determinación de la concentración antimicótica y UFC  
(Juicio de expertos)

DILUCIÓN EN TUBOS PARA DETERMINAR UFC						
N° de repeticiones de placas	CONCENTRACIÓN (%) DE EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Lomanthus truxillensis</i> Cabrera					
	UFC ( Unidades Formadoras de Colonias)					
	Placa con Fluconazol	Placa sin Fluconazol	Extracto al 5 %	Extracto al 15 %	Extracto al 30 %	Extracto al 75 %
1						
2						
3						
4						
5						

**DATOS ESPECIFICOS:**

Hongo       *Candida albicans*       *Aspergillus brasiliensis*

UFC       Extracto (5% 15% 30% 75%)

Control

\_\_\_\_\_

Firma del Experto





FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

VALIDACION DEL INSTRUMENTO

1. DATOS GENERALES

- 1.1.- Apellido y nombres del experto: Alvarado Chávez Britt  
 1.2.- Cargo e institución donde labora: Docente UIGV  
 1.3.- Grado académico: Magister Registro colegio profesional: 08789  
 1.4.- Nombre de instrumento y motivo de evaluación: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS  
 1.5.- Autor de instrumento: Anselmo Ramos Roxana y Flores Huertas Raquel  
 1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cortar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para que su aplicación.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.- Muy poco	2.- Poco	3.- Regular	4.- Aceptable	5.- Muy aceptable
--------------	----------	-------------	---------------	-------------------

INDICACIONES	CRITERIOS	PUNTAJACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento presentado cuenta con un lenguaje adecuado.					✓
2.- Objetividad	El instrumento presentado evidencia que los datos que han sido tomados son observables.					✓
3.- Actualidad	El instrumento presentado se adecua a los criterios científicos.					✓
4.- Organización	El instrumento tiene una secuencia lógica.					✓
5.- Suficiente	Son suficiente en cuanto a la cantidad y calidad de los elementos que presenta el instrumento.					✓
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar los reactivos y las reacciones en los tubos de ensayo en la prueba de la solubilidad.					✓
7.- Coherencia	Existen coherencia y relación de los ítems, indicaciones, las dimensiones y las variables.					✓
8.- Metodología	La estrategia que se empleada responde al objetivo de la problemática de la investigación.					✓
9.- Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la Farmacognosia como de la Microbiológica.					✓
10.- Pertinencia	El instrumento presentado muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					✓

II.- OPINION DE LA APLICABILIDAD: \_\_\_\_\_

III.- PROMEDIO DE VALORACIÓN: 50

Firma del experto

Mg Britt Alvarado Chávez

Puntuación

10 - 20	No valido, reformular
21 - 30	No valido, modificar
31 - 40	Valido, mejorar
41 - 50	Valido, aplicar



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

VALIDACION DEL INSTRUMENTO

1. DATOS GENERALES

- 1.1.- Apellido y nombres del experto: Alvarado Chávez Britt  
 1.2.- Cargo e institución donde labora: Docente U.T.G.V.  
 1.3.- Grado académico: Magister Registro colegio profesional: 08989  
 1.4.- Nombre de instrumento y motivo de evaluación: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS  
 1.5.- Autor de instrumento: Anselmo Ramos Roxana y Flores Huertas Raquel  
 1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cortejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para que su aplicación.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.- Muy poco	2.- Poco	3.- Regular	4.- Aceptable	5.- Muy aceptable
--------------	----------	-------------	---------------	-------------------

INDICACIONES	CRITERIOS	PUNTUACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento presentado cuenta con un lenguaje adecuado.					✓
2.- Objetividad	El instrumento presentado evidencia que los datos que han sido tomados son observables.				✓	
3.- Actualidad	El instrumento presentado se adecua a los criterios científicos.					✓
4.- Organización	El instrumento tiene una secuencia lógica.					✓
5.- Suficiente	Son suficiente en cuanto a la cantidad y calidad de los elementos que presenta el instrumento.				✓	
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar los reactivos y las reacciones en los tubos de ensayo en la prueba de la marcha fitoquímica.					✓
7.- Coherencia	Existen coherencia y relación de los ítems, indicaciones, las dimensiones y las variables.					✓
8.- Metodología	La estrategia que se empleada responde al objetivo de la problemática de la investigación.					✓
9.- Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la Farmacognosia como de la Microbiológica.				✓	
10.- Pertinencia	El instrumento presentado muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					✓

II.- OPINION DE LA APLICABILIDAD: .....

.....

III.- PROMEDIO DE VALORACIÓN: 47

Firma del experto

Mg Britt Alvarado Chávez

Puntuación

10 - 20	No valido, reformular
21 - 30	No valido, modificar
31 - 40	Valido, mejorar
41 - 50	Valido, aplicar



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

VALIDACION DEL INSTRUMENTO

1. DATOS GENERALES

- 1.1.- Apellido y nombres del experto: JACINTO HERVIAS Pedro  
 1.2.- Cargo e institución donde labora: Docente UTSV.  
 1.3.- Grado académico: Magister Registro colegio profesional: 17197  
 1.4.- Nombre de instrumento y motivo de evaluación: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS  
 1.5.- Autor de instrumento: Anselmo Ramos Roxana y Flores Huertas Raquel  
 1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cortejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para que su aplicación.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.- Muy poco	2.- Poco	3.- Regular	4.- Aceptable	5.- Muy aceptable
--------------	----------	-------------	---------------	-------------------

INDICACIONES	CRITERIOS	PUNTUACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento presentado cuenta con un lenguaje adecuado.				✓	
2.- Objetividad	El instrumento presentado evidencia que los datos que han sido tomados son observables.				✓	
3.- Actualidad	El instrumento presentado se adecua a los criterios científicos.				✓	
4.- Organización	El instrumento tiene una secuencia lógica.				✓	
5.- Suficiente	Son suficiente en cuanto a la cantidad y calidad de los elementos que presenta el instrumento.				✓	
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las concentraciones del extracto y el control (fluconazol)				✓	
7.- Coherencia	Existen coherencia y relación de los ítems, indicaciones, las dimensiones y las variables.					✓
8.- Metodología	La estrategia que se empleada responde al objetivo de la problemática de la investigación.				✓	
9.- Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la Farmacognosia como de la Microbiológica.					✓
10.- Pertinencia	El instrumento presentado muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.				✓	

II.- OPINION DE LA APLICABILIDAD: .....

III.- PROMEDIO DE VALORACIÓN: 42 .....

.....  
 Firma del experto

Puntuación

10 - 20	No valido, reformular
21 - 30	No valido, modificar
31 - 40	Valido, mejorar
41 - 50	Valido, aplicar



**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA**  
**VALIDACION DEL INSTRUMENTO**

**1. DATOS GENERALES**

- 1.1.- Apellido y nombres del experto: JACINTO HERVIAS, Pedro  
 1.2.- Cargo e institución donde labora: Docente UTAU  
 1.3.- Grado académico: Magister Registro colegio profesional: 19197  
 1.4.- Nombre de instrumento y motivo de evaluación: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS  
 1.5.- Autor de instrumento: Anselmo Ramos Roxana y Flores Huertas Raquel  
 1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cortejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para que su aplicación.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.- Muy poco	2.- Poco	3.- Regular	4.- Aceptable	5.- Muy aceptable
--------------	----------	-------------	---------------	-------------------

INDICACIONES	CRITERIOS	PUNTUACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento presentado cuenta con un lenguaje adecuado.				✓	
2.- Objetividad	El instrumento presentado evidencia que los datos que han sido tomados son observables.				✓	
3.- Actualidad	El instrumento presentado se adecua a los criterios científicos.				✓	
4.- Organización	El instrumento tiene una secuencia lógica.				✓	
5.- Suficiente	Son suficiente en cuanto a la cantidad y calidad de los elementos que presenta el instrumento.				✓	
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las concentraciones del extracto y el control (fluconazol)				✓	
7.- Coherencia	Existen coherencia y relación de los ítems, indicaciones, las dimensiones y las variables.					✓
8.- Metodología	La estrategia que se empleada responde al objetivo de la problemática de la investigación.				✓	
9.- Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la Farmacognosia como de la Microbiológica.					✓
10.- Pertinencia	El instrumento presentado muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.				✓	

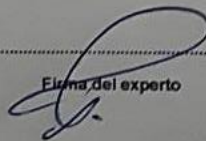
II.- OPINION DE LA APLICABILIDAD: .....

.....

III.- PROMEDIO DE VALORACIÓN: 42 .....

Puntuación

10 - 20	No valido, reformular
21 - 30	No valido, modificar
31 - 40	Valido, mejorar
41 - 50	Valido, aplicar

  
 .....  
 Firma del experto

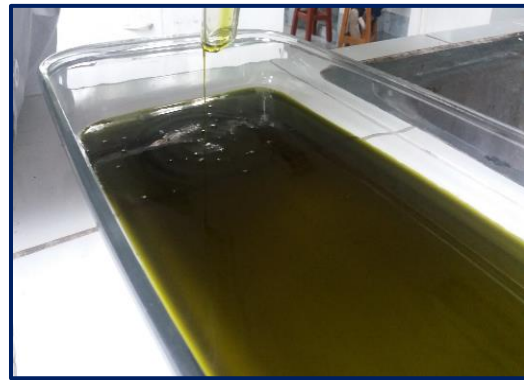
**Anexo N°7: Fotos del Trabajo de Tesis**

**RECOLECCIÓN DE LA ESPECIE *Lomanthus truxillensis* Cabrera**



**PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO**





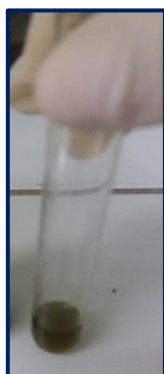
## PRUEBA DE SOLUBILIDAD



## TAMIZAJE FITOQUÍMICO – IDENTIFICACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS



Identificación de Aminoácidos



Reacción Ninhidrina

Identificación de Taninos



Reacción Gelatina

Identificación de Compuestos

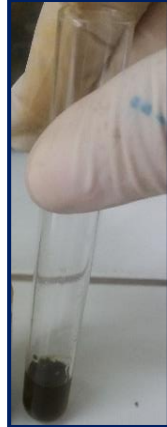


Reacción de  $FeCl_3$

Identificación de  
Alcaloides

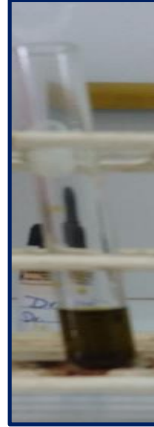


Dragendorff



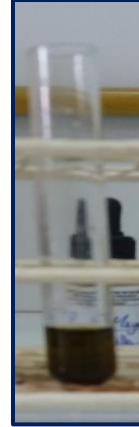
Mayer

Identificación de  
Azúcares Reductores



Fehling A y B

Identificación de  
Esteroides



Lieberman-Burchard

Identificación de  
Quinonas



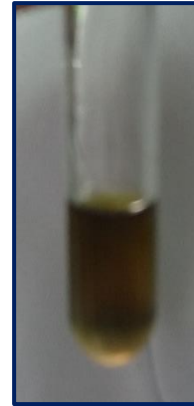
Bortranter

Identificación de  
Flavonoides



Shinoda

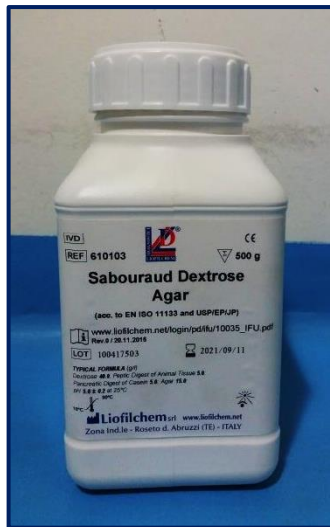
Identificación de  
Glicósidos



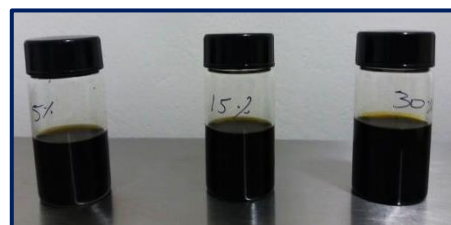
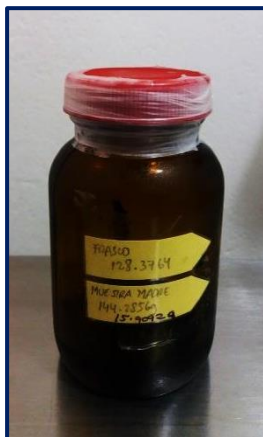
Molish



## PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO



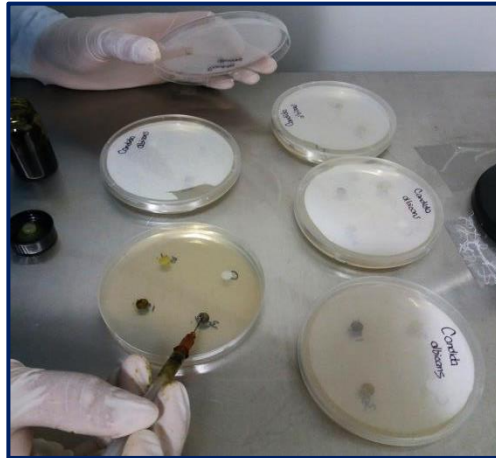
## PREPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES



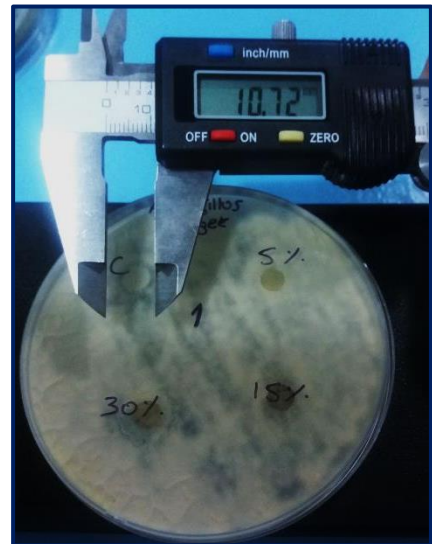
## PREPARACIÓN DEL INÓCULO



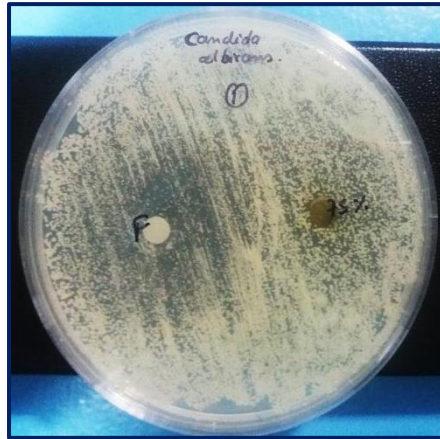
## PRUEBA DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA



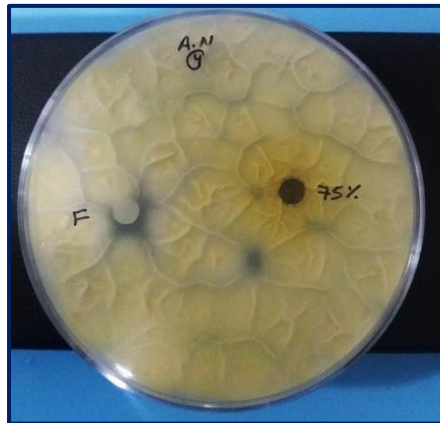
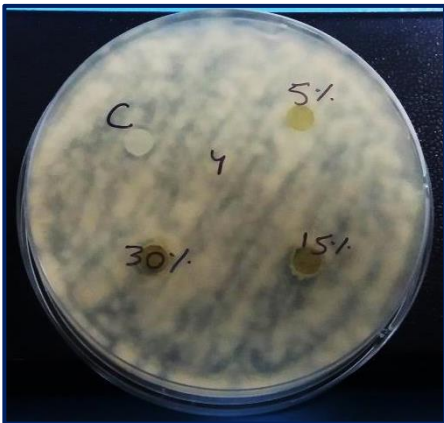
## MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN



*Candida albicans* 5% 15% 30% 75%

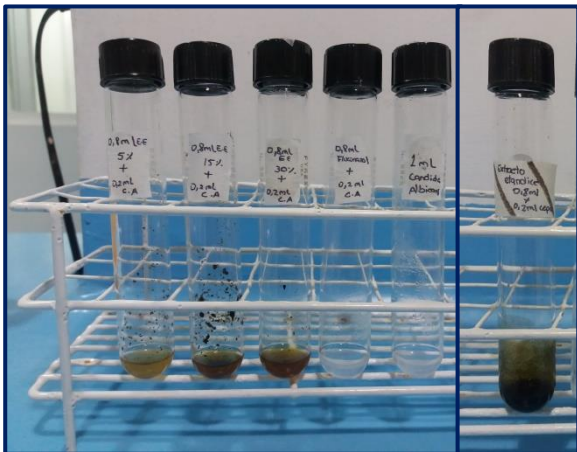


*Aspergillus brasiliensis* 5% 15% 30% 75%

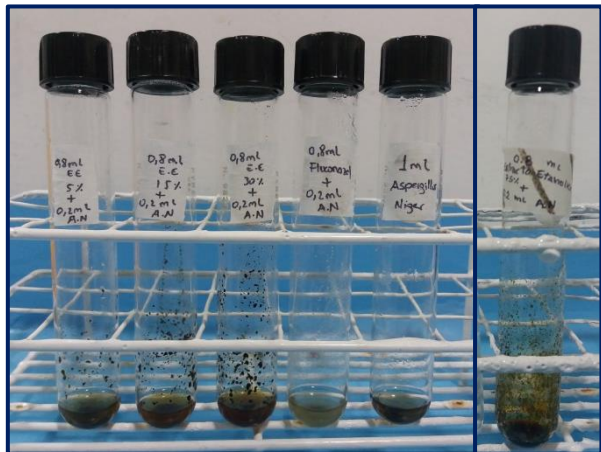


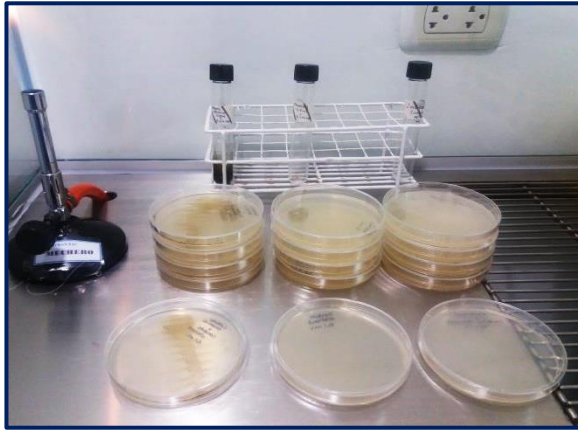
**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN ANTIMICÓTICA – UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC)**

*Candida albicans*



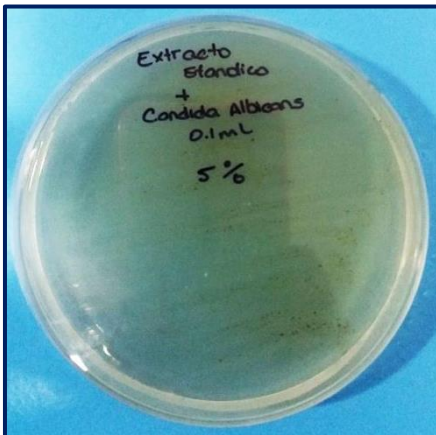
*Aspergillus brasiliensis*





## DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

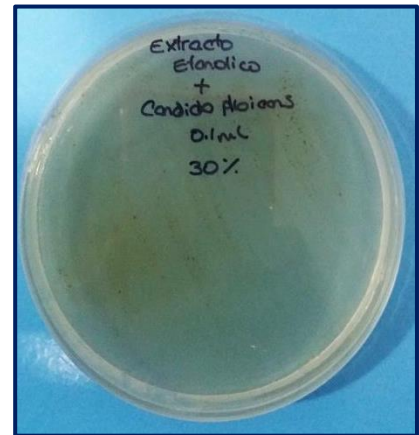
*Candida albicans*



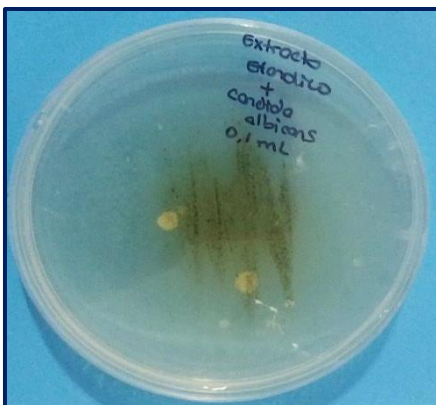
*L. truxillensis* 5% +  
*C. albicans*



*L. truxillensis* 15% +  
*C. albicans*



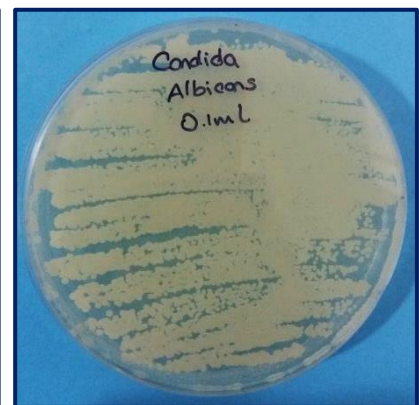
*L. truxillensis* 30% + *C. albicans*



*L. truxillensis* 75% +  
*C. albicans*



Fluconazol +  
*C. albicans*

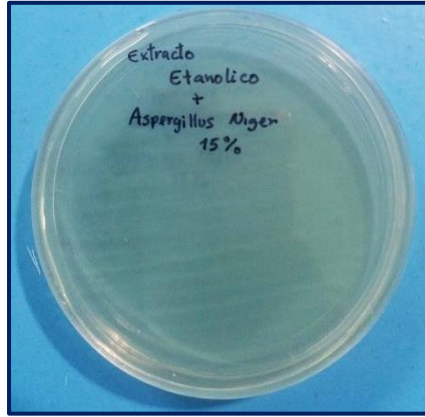


*Candida albicans*

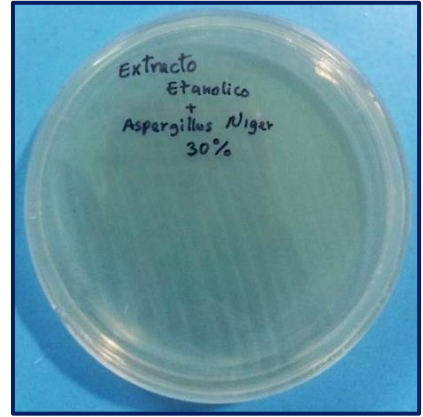
**Aspergillus brasiliensis**



*L. truxillensis* 5% +  
*A. brasiliensis*



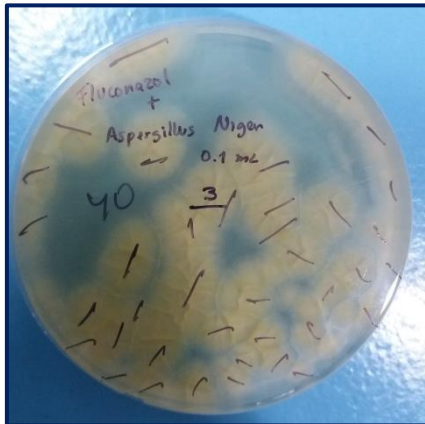
*L. truxillensis* 15% +  
*A. brasiliensis*



*L. truxillensis* 30% +  
*A. brasiliensis*



*L. truxillensis* 75% +  
*A. brasiliensis*



Fluconazol +  
*A. brasiliensis*



*Aspergillus*  
*brasiliensis*

**LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA**



# ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA:CABRERA

*por Roxana/anselmo Raquel/flores*

---

**Fecha de entrega:** 23-may-2018 04:51p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 967805145

**Nombre del archivo:** ACTIVIDAD\_ANTIMICOTICA-CABRERA.docx (5.78M)

**Total de palabras:** 23265

**Total de caracteres:** 133817

## ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA: CABRERA

### INFORME DE ORIGINALIDAD

**22%**

INDICE DE SIMILITUD

**20%**

FUENTES DE  
INTERNET

**2%**

PUBLICACIONES

**6%**

TRABAJOS DEL  
ESTUDIANTE

### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.upao.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>3%</b>
<b>2</b>	<b>dspace.unitru.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>3%</b>
<b>3</b>	<b>Submitted to Universidad Cesar Vallejo</b> Trabajo del estudiante	<b>2%</b>
<b>4</b>	<b>javeriana.edu.co</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>5</b>	<b>repositorio.unsaac.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>6</b>	<b>www.slideshare.net</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>7</b>	<b>cybertesis.uach.cl</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>8</b>	<b>documents.mx</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>9</b>	<b>repositorio.unapiquitos.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>