



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**EFEECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DE DECOCCIONES E  
INFUSIONES DE *Minthostachys setosa* Y *Xanthium catharticum* EN  
DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE *Candida albicans***

**2017**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. RICHARD RENE CALCINA ZAPANA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PUNO PERÚ**

**2020**



## DEDICATORIA

*A Dios, por haberme dado salud, y vida para lograr mis objetivos trazados, además de no apartarse de mí en ningún momento.*

*A mis queridos padres Simón y Hermenegilda por su apoyo, consejos, comprensión, y por darme siempre todo su amor incondicional, siendo el motor y el pilar fundamental en todo el trayecto de mi vida. Me han enseñado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi coraje para conseguir mis objetivos.*

*Con especial cariño a mi pareja Dina, por brindar su apoyo incondicional en cada momento de mi vida, y mi hijo querido Thiago por ser una fuente de motivación e inspiración inagotable y de alegría en mi día a día.*

**Richard René**



## AGRADECIMIENTOS

A Dios quien me guio y me dio la fortaleza de seguir adelante.

A la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, mi alma mater. Al cuerpo docente de la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial al área de Microbiología y Laboratorio Clínico, por sus enseñanzas vertidas durante mi formación profesional.

A mis padres y familiares por su apoyo.

Mi especial agradecimiento al Dr. Sc. Juan José Pauro Roque, por su apoyo y su orientación incondicional bajo su dirección, en el desarrollo y elaboración de este trabajo. A los miembros del jurado: Dra. Youri Teresa Del Carpio Condori, M. Sc. Gilmar Gamaliel Goyzueta Camacho y Mg. María Isabel Vallenias Gaona por el apoyo y sugerencias para el enriquecimiento de mi trabajo durante la corrección y dictamen del borrador de tesis.

A mi familia por su gran apoyo comprensión.

A mis amigos, que me apoyaron en la realización de este trabajo.

**Richard René**



## ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**ÍNDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

**RESUMEN .....10**

**ABSTRACT.....11**

### **CAPÍTULO I**

#### **INTRODUCCIÓN**

**1.1 OBJETIVO GENERAL.....13**

**1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....13**

### **CAPÍTULO II**

#### **REVISIÓN DE LITERATURA**

**2.1 ANTECEDENTES DEL PROYECTO.....14**

**2.2 MARCO TEÓRICO.....17**

2.2.1 Plantas medicinales..... 17

2.2.2 Decocción e infusiones de plantas.....21

2.2.3 Moléculas con actividad antimicótica.....21

2.2.4 La candidiasis .....23

### **CAPÍTULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

**3.1 TIPO DE ESTUDIO.....28**

**3.2 POBLACIÓN DE MUESTRA .....28**

**3.3 METODOLOGÍA .....28**

3.3.1 Determinación de la composición fitoquímica cualitativa de alcaloides, fenoles y taninos en biomasa seca de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum*.....28

3.3.2 Evaluación de la actividad antimicótica *in vitro* de las decocciones e infusiones en concentraciones de 1, 10, 30, 50 y 100% de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* sobre *Candida albicans*.....30



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA CUALITATIVA DE <i>Minthostachys setosa</i> Y <i>Xanthium catharticum</i> .....	33
4.2	ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA <i>IN VITRO</i> DE LAS DECOCCIONES E INFUSIONES DE <i>Minthostachys setosa</i> Y <i>Xanthium catharticum</i> SOBRE <i>Candida albicans</i> .....	38
V.	CONCLUSIONES .....	43
VI.	RECOMENDACIONES .....	44
VII.	REFERENCIAS .....	45
	ANEXOS.....	54

**Área:** Ciencias Biomédicas

**Línea:** Diagnóstico y Epidemiología

**FECHA DE SUSTENTACIÓN:** 16 de enero del 2020.



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Individuo de la planta “muña” ( <i>Minthostachys setosa</i> ).....	19
<b>Figura 2.</b> Individuo de la planta “espina de perro” ( <i>Minthostachys setosa</i> ).....	20
<b>Figura 3.</b> Análisis fitoquímico preliminar de la decocción (izquierda) e infusión (derecha) de la muña, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, setiembre 2017. ....	33
<b>Figura 4.</b> Análisis fitoquímico preliminar de la decocción (izquierda) e infusión (derecha) de la espina de perro, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre 2017.....	34
<b>Figura 5.</b> Prueba de Tukey de los halos de inhibición (mm) obtenidos por concentraciones de decocciones o infusiones de plantas sobre <i>C. albicans</i> , laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre 2017.....	40
<b>Figura 6.</b> Separación de órganos vegetales de las plantas, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre del 2017. ....	54
<b>Figura 7.</b> Proceso de molido en mortero de las muestras de plantas, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre del 2017. ....	54
<b>Figura 8.</b> Conservación de muestras seca, molidas y dispuestas en bolsas ciflot, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre del 2017.....	54
<b>Figura 9.</b> Pesado de muestras de plantas para la preparación de extractos e infusiones, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre del 2017.....	55
<b>Figura 10.</b> Aislamiento y subcultivo de <i>Candida</i> , laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre del 2017.....	55
<b>Figura 11.</b> Obtención de decocciones e infusiones de las plantas, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre del 2017. ....	55
<b>Figura 12.</b> Medición de halos de inhibición de las decocciones e infusiones de muña	



y espina de perro sobre *Candida albicans*, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre del 2017. ....56

**Figura 13.** Constancia de ejecución de tesis en el laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre del 2017.....57



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Distribución del número de muestras a evaluar en la investigación. ....	28
<b>Tabla 2.</b> Lectura de intensidad de color y rangos de evaluación para la evaluación fitoquímica (Medina, 1997). ....	30
<b>Tabla 3.</b> Lectura de fitoquímica cualitativa de decocciones e infusiones de biomasa seca de muña ( <i>Minthostachys setosa</i> ), laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre 2017. ....	33
<b>Tabla 4.</b> Lectura de fitoquímica cualitativa de decocciones e infusiones de biomasa seca de espina de perro ( <i>Xanthium catharticum</i> ), laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre 2017. ....	34
<b>Tabla 5.</b> Halos de inhibición (mm) de decocciones e infusiones de muña ( <i>Minthostachys setosa</i> ) y espina de perro ( <i>Xanthium catharticum</i> ) sobre <i>Candida albicans</i> , laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre 2017. ....	38





## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

*et al.* = colaboradores

FCCBB = Facultad de Ciencias Biológicas.

INS = Instituto Nacional de Salud.

ITU = infecciones del tracto urinario

sp = especie

UNA Puno = Universidad Nacional del Altiplano de Puno.



## RESUMEN

Las infecciones por *Candida albicans* son un problema muy frecuente debido a su resistencia a los antimicóticos, y los efectos adversos a la salud de las personas, en tal sentido se recurre a las plantas medicinales. Los objetivos específicos fueron: a) determinar la composición fitoquímica cualitativa de alcaloides, fenoles y taninos en biomasa seca de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* y b) evaluar la actividad antimicótica *in vitro* de las decocciones e infusiones en concentraciones de 1, 10, 30, 50 y 100% de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* sobre *Candida albicans*. La metodología inició con la adquisición de las plantas medicinales en la ciudad de Puno, las plantas frescas fueron secadas a medio ambiente, a partir de la materia seca se prepararon decocciones e infusiones en concentraciones de 1, 10, 30, 50 y 100% que previamente fueron evaluadas la presencia de alcaloides, fenoles y taninos en contenidos leve (+), abundante (++) y muy abundante (+++), posteriormente se evaluó la actividad antimicótica de cada una de las concentraciones en cultivos *in vitro* sobre *Candida albicans*, los cuales poseerán un control positivo (fluconazol). Los resultados fueron evaluados mediante un análisis factorial 2 (plantas) x 2 (aplicaciones) x 5 (concentraciones). Los resultados fueron: La composición fitoquímica cualitativa en *M. setosa* fue en decocciones fue en alcaloides, fenoles y taninos ++, y en la infusión los alcaloides +++, los fenoles y taninos +; en *X. catharticum* las decocciones presentaron alcaloides +++, fenoles ++ y taninos + y la infusión los alcaloides +++, y fenoles y taninos +. *Candida albicans* fue resistente a concentraciones de 1 al 30% de las decocciones e infusiones de muña y espina de perro y sensible a las concentraciones de 50 y 100%. En conclusión, los alcaloides fueron los más abundantes en infusión de *M. setosa* y en decocciones e infusión de *X. catharticum*, y las concentraciones de 50% y 100% ejercieron inhibición en *C. albicans*.

**Palabras clave:** Antimicótico, decocción, infusión, *Minthostachys*, *Xanthium*, *Candida*.



## ABSTRACT

*Candida albicans* infections are a very frequent problem due to their resistance to antifungals, and adverse effects on the health of the consumer, in this sense the medicinal plants are used. The specific objectives were: a) to determine the qualitative phytochemical composition of alkaloids, phenols and tannins in dry biomass of *Minthostachys setosa* and *Xanthium catharticum* and b) to evaluate the in vitro antifungal activity of decoctions and infusions in concentrations of 1, 10, 30, 50 and 100% of *Minthostachys setosa* and *Xanthium catharticum* on *Candida albicans*. The methodology began with the acquisition of medicinal plants in the city of Puno, then they were dried to the environment, from the dry matter, decoctions and infusions were prepared in concentrations of 1, 10, 30, 50 and 100% that were previously evaluated the presence of alkaloids, phenols and tannins in mild (+), abundant (++) and very abundant (++++) contents, subsequently the antifungal activity of each of the concentrations in in vitro cultures on *Candida albicans* was evaluated, which will have a positive control (fluconazole). The results were evaluated by a factor analysis 2 (plants) x 2 (applications) x 5 (concentrations). The results were: The qualitative phytochemical composition in *M. setosa* was in decoctions was in alkaloids, phenols and tannins ++, and in the infusion alkaloids +++, phenols and tannins +; in *X. catharticum* the decoctions presented alkaloids +++, phenols ++ and tannins + and the infusion alkaloids +++, and phenols and tannins +. *Candida albicans* was resistant to concentrations of 1 to 30% of decoctions and infusions of dog's spine and spine and sensitive to concentrations of 50 and 100%. In conclusion, the alkaloids were the most abundant in infusion of *M. setosa* and in decoctions and infusion of *X. catharticum*, and concentrations of 50% and 100% exerted inhibition in *C. albicans*.

**Key words:** Antifungal, decoction, infusion, *Minthostachys*, *Xanthium*, *Candida*.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

En la ciudad de Puno se expenden una gran variedad de plantas medicinales que proceden de diferentes zonas ecológicas de la región Puno, donde los expendedores de plantas medicinales, indican y recomiendan a la población sus propiedades medicinales en forma empírica. Entre ellas se mencionan a *Minthostachys setosa* (muña) y *Xanthium catharticum* (espina de perro), plantas con actividad antibacteriana y antimicótica según los antecedentes revisados y que actualmente carece de estudios en levaduras patógenas *Candida albicans* al respecto en las especies presentes en la región Puno.

Por otro lado, las infecciones originadas por *Candida albicans* se presentan en pacientes con inmunodeficiencia, así como también paulatinamente vienen incrementando su resistencia a varios antimicóticos. Por otro lado, el consumo exagerado de antimicóticos contra *Candida albicans*, trae consecuencias dañinas a órganos tales como el hígado, entre otros órganos (Salas *et al.*, 2000), por lo que se debería buscar una alternativa en la medicina tradicional utilizando plantas medicinales.

*Minthostachys setosa*, conocida popularmente en la región Puno como muña, es una planta recomendada para el tratamiento de dolencias de vías respiratorias y digestivas entre otras aplicaciones tradicionales, la planta habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía, crece entre 2500 y 3900 msnm, es una planta hemicriptófila debido a que durante el invierno frío y seco sus hojas desaparecen para brotar nuevamente ante la presencia de las primeras lluvias de la primavera.

*Xanthium catharticum*, comúnmente llamada como espina de perro, es una planta espinosa, se usa popularmente para la preparación de emulsiones que se administran como catárticas, béquicas, usarlas contra la tos o dolor de garganta, es diurético e indican que no debe ser tomada por mujeres, es buena para los riñones, en las comunidades campesinas es utilizada en infusión para purificar la sangre y es utilizada para tratar la diarrea de los animales menores o mayores.



Actualmente existe un interés por encontrar medicamentos que puedan sustituir los fármacos sintéticos, dichas alternativas vienen siendo buscadas dentro de la Medicina Tradicional, ya que actualmente posee terapias empíricas para el tratamiento de las afecciones y dolencias de enfermedades, a su vez brinda aporta al desarrollo sustentable de una sociedad con enfoque a aquellos sectores de bajos recursos económicos y que al descubrir las bondades antibióticas de las plantas, marcaría el inicio obtener fármacos antifúngicos en base a los complejos activos de plantas medicinales, que entre sus ventajas están que son fáciles de adquirir y abundantes en nuestro país.

En tal sentido se plantearon los siguientes objetivos:

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto antimicótico *in vitro* de las decocciones e infusiones de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* en diferentes concentraciones sobre *Candida albicans*.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la composición fitoquímica cualitativa de alcaloides, fenoles y taninos en biomasa seca de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum*.
- Evaluar la actividad antimicótica *in vitro* de las decocciones e infusiones en concentraciones de 1, 10, 30, 50 y 100% de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* sobre *Candida albicans*.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 ANTECEDENTES DEL PROYECTO

La actividad antifúngica del extracto etanólico de *Schinus molle* sobre *Candida albicans*, mostró actividad antifúngica a una concentración de 25 µg/mL, con un halo de inhibición  $\geq 20$ mm y con el fluconazol 25 µg/ml un halo de inhibición de  $\geq 31$ mm ( $p = 0.0001$ ) (Saravia y Guillinta, 2012), las especies vegetales de México en infusión o cocimiento de *Xanthium canadense* Miller., *Xanthium strumarium* L. *Xanthium chinense* Miller y *Xanthium orientale* L. presentan aceites esenciales, ácidos orgánicos, alcaloides, carotenos, fenoles, fitosteroles, flavonoides, glicósidos, lactonas (cumarinas), lignanos, mucílagos, pectinas, polisacáridos, quinonas, saponinas, taninos y terpenos (mono, di, tri y sesquiterpenos), poseen actividad antimicrobiana, antiinflamatoria o astringente (Waizel y Martínez, 2011), la actividad antimicótica en cepas de *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258, *Aspergillus flavus* ATCC 204304 y *Aspergillus fumigatus* ATCC 204305, con aceites de las plantas *Achyrocline alata* y *Baccharis latifolia* fueron los únicos activos contra *A. fumigatus* (media geométrica de la concentración mínima inhibitoria = 78.7 y 157.4 µg/mL (Zapata *et al.*, 2010).

Los metabolitos del aceite esencial (AE) de *Minthostachys mollis* (muña) pulegona, limoneno, mentona y mirceno (monoterpenos) son los responsables de la actividad fungicida – fungistática frente a las cepas de *Candida albicans* originando un halo de 30 mm al 100% de AE de muña y 35 mm al 50% (Cano, 2007), extractos de 10 plantas de la medicina popular en Argentina, cuatro mostraron actividad antifúngica, entre ellas *Larrea divaricata* Cav, *Gnaphalium gaudichaudianum* D.C, *Baccharis trimera* Less y *Schinus terebenthifolius* (Davicino *et al.*, 2007), un estudio *in vitro* con discos embebidos en un ungüento hidrofílico de *Plantago major* en agar Sabouraud a una concentración de 20.7 g de sólidos por cada g de ungüento hidrófilo, fue efectiva frente a *Candida albicans*, en menor grado a *Trichophyton rubrum* y sin actividad antimicótica *in vitro* a *Microsporum canis*, pero fue inferior a los antimicóticos comerciales como ketoconazol, nistatina y tolnaftato (Rodríguez *et al.*, 1996), el AE de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Candida albicans* originaron halos de inhibición máximos de 20 mm con 25% de AE, 14 al 50%



de AE, 20 mm al 75% de AE y 20 mm al 100% de AE, frente a la nistatina que originó 10 mm, el AE de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) originó los mayores halos de inhibición de 16 mm con 25% de AE, 16 al 50% de AE, 24 mm al 75% de AE y 25 mm al 100% de AE, frente a la nistatina que originó 10 mm (Chamba, 2015).

En el crecimiento de *Candida albicans* ATCC 90028, los porcentajes de inhibición (PI) originadas por extracto etanólico (EET) de esencia de rosas fue del 91.35% a una concentración de 8 µg/mL, con el extracto hidroalcohólico de ajo seco logró un PI de 66.40% a una concentración de 16 µg/mL, EET de nogal logró un 90.92% de PI a una concentración de 4 µg/mL (Cañar y Paguay, 2017), el extracto etanólico de la semilla de *Foeniculum vulgare* Mill. (Hinojo) tuvo efecto inhibitorio in vitro frente a *Candida albicans*, al utilizar las diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%), con una CMI al 25%, con respecto a los halos de inhibición, presentó una sensibilidad media (++) en las concentraciones de 75% y 100% y el grupo control (fluconazol) no presentó efecto antifúngico (Castañeda, 2016), el extracto etanólico de *Psidium acutangulum* fue el más activo contra los hongos evaluados (*Candida albicans*, *Sporothrix schenckii* y *Trychophyton mentagrophytes*), en la que se identificó a la 3'-formil-2',4',6'-trihidroxi-dihidrochalcona, que mostró concentraciones inhibitorias mínimas de 16 – 512 µg/mL contra los hongos *Cryptococcus neoformans*, *S. schenckii* y varias especies de *Candida* (Wen *et al.*, 2011).

La mediana de los halos de inhibición del grupo muña (GM = grupo muña) 25% fue de 32.00 mm (31.00 a 33.75); del GM 50%: 40.00 mm (39.25 a 41.00); del GM 100%: 46.80 mm (46.00 a 48.00), y del grupo Fluconazol: 39.00 mm (38.00 a 40.75) (Alcalá *et al.*, 2011), la CMI de los extractos que presentaron efecto antimicrobiano en *Candida albicans* ATCC 10231, fue de 250 µg/mL para *Hypericum laricifolium* L., *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* L. y *Schinus molle* L. (un extracto de corteza y uno de hojas) y de 500 µg/mL para *Piper* spp (Huamaní y Ruíz, 2005), mediante microdilución 19 (79%), 18 (75%) y 24 (100 %) de los extractos investigados presentaron CMIs ≤ 1000 µg/mL, frente a *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* cepa clínica y *Microsporum canis*, respectivamente. Los extractos con la mayor actividad antifúngica fueron los de *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* y *Terminalia catappa*, con CMIs < 100 µg/mL (Ruíz, 2013), el aceite esencial de *Origanum vulgare* origina un halo de inhibición a las 24 y 48 horas de 45.73 mm y 46.35 mm respectivamente, mayor que la



Nistatina de 17.83 mm y 18.20 mm respectivamente y con la *Mentha piperita* de 18.85 mm y 19.88 mm, muy cercano al de la Nistatina de 19.60 mm y 20.30 mm (Colpa, 2016).

Se formaron halos de inhibición de 6.46 mm, 10.96 mm, 14.75 mm y 16.5 mm para los extractos hidroalcohólicos de *Uncaria tomentosa* al 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente, la nistatina mostró un halo de inhibición de 23.42 mm y el alcohol etílico de 70° no obtuvo ningún efecto antifúngico (Cadena *et al.*, 2017), se determinó la actividad antimicrobiana contra *Candida albicans* del extracto alcohólico de *Thymus vulgaris* (tomillo) al 25% de halo de inhibición (HI) con un promedio de 11.0 mm; 50% HI con un promedio de 10.33 mm; 75% HI con un promedio de 12.00 mm y al 100% HI con un promedio de 13.33 mm (Nieto, 2018), la media de los halos de inhibición del aceite esencial a una concentración de 1 ml/25 $\mu$ l fue de 3.4 mm; a 1 mL/25 $\mu$ l fue 11.1mm; del 1 mL/100 $\mu$ l fue 15.7 mm; del 1 mL/150 $\mu$ l fue 19.0mm; del 1 mL/200 $\mu$ l fue 24.1 mm; del 1mL/250 $\mu$ l fue de 29.2mm y del grupo de Fluconazol 25.5mm (Salas, 2016).

Con nistatina de 100.000 U se obtuvo un diámetro de 10.95 mm en el crecimiento de *Candida albicans*, *Moringa oleifera* Lam. al 100% un diámetro de 9.58 mm, *M. oleifera* Lam. al 50% tuvo una media de 8.10 mm, *M. oleifera* Lam. al 25% originó una media de 4.78mm y al final con el agua destilada se obtuvo un valor de 0 mm (Guzmán, 2018), *Candida albicans* frente a las altas de concentraciones de aceite esencial de *Mentha piperita* su actividad nula, el extracto alcohólico de la *M. piperita* originó un promedio de halo de inhibición menor a 3 mm (Flores, 2017), el extracto de hojas y tallo de *Minthostachys mollis* tuvo mayor actividad fungistática frente a *Candida albicans*, y originó halos de inhibición de  $47.72 \pm 6.67$ mm y  $46.58 \pm 6.42$  mm respectivamente, la CMI fue de 46.87 mg/ml, 93.75 mg/ml y 1500 mg/ml para hojas, tallos y raíces respectivamente (Neyra y Armas, 2018), *Minthostachys mollis* colectada en Junín siguiendo la marcha fitoquímica de Olga Lock presentó alcaloides entre abundante (++) y leve (+) contenido, en cuanto a fenoles presentó entre abundante (++) y muy abundante (+++), presentando diferencias cualitativas en la presencia de los metabolitos (Pawer *et al.*, 2018).





## 2.2 MARCO TEÓRICO

### 2.2.1 Plantas medicinales

El empleo de plantas como tratamiento de diversos males, se viene usando desde tiempos muy remotos, basándose en conocimientos tradicionales y creencias populares, transmitidos de generación en generación (Cáceda, 1999), el desarrollo de los medicamentos modernos ha sido resultado de las formas cada vez más complejas de aprovechar las plantas medicinales y su producción continua dependiendo del uso de plantas como materia prima en gran parte (Bardales, 1999), el valor de las plantas curativas como recurso medicinal, es por la presencia de una sustancia química (sustancia activo) que produce un efecto fisiológico, tales como aceites esenciales, taninos, fenoles, alcaloides, glúcidos, saponinas, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides, resinas (Thompson, 1981).

El Perú posee una gran diversidad biológica de especies vegetales, se calcula unas 25 000 especies conocidas producto de una amplia de sistemas ecológicos con los que cuenta nuestro país (Palacios, 1997), por ello diversos pueblos nativos del Perú han utilizado desde tiempos antiguos las plantas medicinales, señalándoles nombres que conocemos como nombres comunes o nombres populares, es decir origina que, en el saber popular, a una planta se le concede más de un nombre de acuerdo a la región o zona, idioma nativo que se use, de igual forma, un mismo nombre común puede ser usado para designar a más de una planta (INS, 2013).

#### a. Muña (*Minthostachys setosa*)

##### Ubicación taxonómica:

Reino	: Plantae
División	: Fanerogama
Sub división	: Angiosperma
Clase	: Dicotiledónea
Subclase	: Gamopétala
Orden	: Tubiflorales
Familia	: Lamiaceae



Género : *Minthostachys*  
Nombre científico : *Minthostachys setosa* (Brig) Epl. \*  
Nombre común : Muña

\* Especie reportada en la región Puno (Cáceda y Rossel, 1993).

**Origen.** La muña proviene de la sierra peruana y su cultivo es expandido en las regiones de Apurímac, Ayacucho, Cuzco, Huancavelica y Puno, donde se la conoce con diversos nombres como huaycho, coa o ismuña (Fuentes y Munguía, 2001), también es conocida como orégano en Colombia y peperina en Argentina, además se encuentra en Ecuador, Venezuela, Brasil y Bolivia, habita en los diferentes regiones naturales de nuestra serranía, se denomina en la lengua Quechua “muña”, y en la Aymara tiene dos nombres: “coa” y “huaycha”. Otros nombres con los que se le conoce son: "muña negra", "polco silvestre", "coz", "muña-muña", "arash muña", "kon", "orcco-muña" (Cáceda, 1999).

**Descripción morfológica.** Son arbustos aromáticos ampliamente distribuidos en las zonas andinas, son trepadores o de ramas amplias con flores pequeñas dispuestas de forma variada (Cáceda y Rossel, 1993), poseen brácteas algunas veces son foliáceas, y el cáliz es tubular con 13 nervaduras, con 5 dientes de forma deltoides angosta y el cuello es velludo- anillado, la corola es de forma tubular, con 2 lóbulos altos y bajos, presenta estambres pequeños a la mitad del tubo corolar, es un arbusto o sufrutice que mide hasta 2.0 m de alto, muy aromático, ramificado con tallos semileñosos y glabros (Mostacero *et al.*, 2011).

**Distribución geográfica.** Es una planta arbustiva que se desarrolla entre los 2500 a 3500 msnm, frondoso en la parte superior; erecto y pubescente, su tallo es ramificado desde la base y alcanza de 80 a 120 cm de altura, posee hojas pequeñas y sus flores son blancas y reunidas en cortos racimos (Fournet *et al.*, 1996), es una planta hemicriptófila durante la época de friaje y seca en invierno desapareciendo sus órganos aéreos, brotan nuevamente con las primeras lluvias de la primavera, alcanzando una altura de 1.50 m, se desarrolla en suelos arenosos, ricos en materia orgánica, con buena retención de humedad, tienen un pH entre 5 – 8 y un clima con abundante luminosidad (Alonso, 2006).

**Descripción botánica.** Es una planta arbustiva, erecta y rastrera de 0.03 m a 1.25 m (Figura 1), raíz pivotante y de consistencia, a partir de la corona brota un gran número de tallos con abundante población foliar entre anchas y angostas alternas y simples, sin brácteas con ritidomas de color marrón, inflorescencia racimosa dicotómica de 10 a 30 flores solitarias o asociados formando glomérulos (Domínguez, 2009), se presenta como arbusto leñoso, de tallo tetragonal, bastante tupido en las hojas pequeñas, ovales con pilosidad en los peciolo y cara inferior, raíz de aspecto leñoso (Matissek, 2011).



**Figura 1.** Individuo de la planta “muña” (*Minthostachys setosa*).

**Fuente.** Fotografía propia.

**Propiedades y usos de la muña.** Posee propiedades digestivas contra cólicos, flatulencia (carminativo), vómitos, diarreas y problemas de resfrío, antitusígenas, antiasmático, expectorante, antiespasmódicas, antiséptica, analgésico, antiinflamatorio febrífugas, en tratamiento de tumores y mezclándola con chilca se utilizaba en fracturas (Fuertes y Munguía, 2001), la composición de la muña es: aceite esencial, glucósidos, mucilagos, saponinas, taninos, alcaloides y esteroides, asimismo contiene carbohidratos, calcio, fosfato, fiero, trazas de vitamina B1, esencias y mentón (Bardales *et al.*, 1999).

#### **b. Espina de perro (*Xanthium catharticum*)**

##### **Ubicación taxonómica:**

División : Magnoliophyta  
Clase : Magnoliopsida  
Subclase : Asteridae  
Orden : Asterales

Familia	: Asteraceae
Género	: <i>Xanthium</i>
Especie	: <i>Xanthium catharticum</i> Humboldt, Bonpland et Kunth *.
Nombre vulgar	: "espina de perro"

\* Especie reportada en la región Puno (Cáceda y Rossel, 1993).

**Origen.** Es originaria de Sudamérica, de zonas cálido templado, se ha distribuido en todo el continente americano y en algunas partes de Europa, crece entre los 1800 y 3200 msnm, especialmente en los suelos modificados, terrenos cultivados, potreros, baldíos, orillas de caminos y arcenes (Cáceda, 1999), es una hierba que se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo se piensa que es de América del Sur, por lo tanto, se usa ampliamente en la medicina tradicional (Duke *et al.*, 2008).

**Descripción botánica.** Planta herbácea anual de 30 a 120 cm, posee hojas lanceolada - lobuladas de color verde oscuro con envés grisáceo o blanquinoso (Figura 2), es originaria del cono sur (Perú, Bolivia, Chile y Argentina), flores de color amarillo o verdoso, las masculinas nacen sobre cortas ramillas terminales, y las femeninas en las axilas de las hojas, las semillas recubiertos en un fruto granado (aquenio) (Quispe, 2004), su tallo es erecto con espinas de tres puntas de color amarillo, en donde los capítulos florales son unisexuados florece desde principios de verano (Cáceda, 1999).



**Figura 2.** Individuo de la planta “espina de perro” (*Minthostachys setosa*).

**Fuente.** Fotografía propia.



**Composición química.** Contiene dos lactonas sesquiterpénicas y tres diterpenos de núcleo kaurano, dos xantonas, el xantanol y el isoxantanol (Quispe, 2004), el ziniolide del extracto metanólico de las raíces del género *Xanthium* es un antiinflamatorio, inhiben rápidamente a los eicosanoides proinflamatorios, que son mediadores en la fiebre, inflamación, trastornos hepáticos y pulmones, mordedura de serpiente y diarrea crónica (Jativa *et al.*, 1991).

**Usos tradicionales.** Es utilizado para los golpes, heridas, inflamación de la próstata, dolor de ovario y riñones, cálculos renales, tratamiento de la rasca - rasca y la sarna, terapia de las inflamaciones internas, heridas internas y en veterinaria para golpes, hinchazones y heridas (Quispe, 2004), la infusión de hojas, el tallo y la raíz, se usa para tratar inflamación de las vías urinarias, donde las semillas en emulsiones y horchatas para combatir la tos (Torre *et al.*, 2008).

### 2.2.2 Decocción e infusiones de plantas

**Decocciones de plantas.** Se utiliza primordialmente para obtener extractos líquidos a partir de partes duras de la planta como rizomas, raíces, tallos, gruesos, cortezas, frutos duros, semillas o la planta entera, también se puede usar a partir de partes delicadas como hojas, flores y frutos tiernos (Kuklinski, 2000), por ello se prepara en proporción de una parte vegetal por 20 partes de agua antes de iniciarse la ebullición durante cinco a diez minutos (Cáceres, 1996).

**Infusión de plantas.** Se prepara con partes tiernas de las plantas, tales como hojas, flores y sumidades floridas ricas en aceites esenciales, en un recipiente se transfiere un g de droga por ml. de agua o 50 g de droga por litro de agua (Brack, 1999), la planta debe estar desmenuzada, cortada, troceada, triturada o pulverizada, se le agrega agua hirviendo, y se reposa por 15 a 30 minutos (Cáceres, 1996).

### 2.2.3 Moléculas con actividad antimicótica

Las plantas sintetizan metabolitos secundarios, como las fitoanticipinas y las fitoalexinas, que utilizan para defenderse de la infección por agentes fitopatógenos, entre ellos los



hongos, pueden ser utilizadas para estudios *in vitro* contra agentes micóticos en infecciones en humanos (Kalemba y Kunicka, 2003), donde el aceite esencial de una planta posea la capacidad bacteriostáticas o fungistáticas, o la concentración mínima letal que asegure la reducción de un 99.9 % de la población del microorganismo propiedades bactericida y fungicida (Burt, 2004).

**Principio activo de las plantas.** El valor medicinal de las plantas curativas, se debe a la presencia de su - principio activo que produce un efecto fisiológico, muchos de los principios activos son complejos, desconociéndose su naturaleza química, como los aceites esenciales, alcaloides, glúcidos, taninos, sapogeninas, fenoles, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides y resinas (Thompson, 1981), todos ellos son el producto final del metabolismo secundario de muchas células vegetales, por lo que no se reintegran al metabolismo celular (Strasburger *et al.*, 1978).

**Alcaloides.** Los alcaloides son metabolitos secundarios de plantas ubicadas en las semillas, raíces, cortezas y hojas, están libres o como glucósidos, o forman sales con ácidos orgánicos, son sintetizados desde aminoácidos como precursores y son llamados pseudoalcaloides los que poseen nitrógeno en un ciclo, pero no son originados por aminoácidos (Bruneton, 2001), poseen entre sus propiedades farmacológicas los efectos anticolinérgica, cardioestimulante, anticancerígena, descongestionador nasal, broncodilatador, antiparkinsoniano, somnofílico, analgésico, bactericida, fungicida y antioxidante (Montoya *et al.*, 2004).

**Fenoles.** Son un grupo de moléculas sencillas como son los taninos y la lignina, también se incluyen los pigmentos flavonoides, las dos rutas básicas de la biosíntesis de compuestos fenólicos son la ruta del ácido siquímico y la ruta del ácido masónico, derivan de los aminoácidos aromáticos, poseen un grupo fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo, todos ellos son compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides (Ávalos, 2009), poseen actividad desinfectante, antiséptica urinaria, diurética, actividad antiagregante plaquetaria, antiinflamatoria y captadora de radicales libres, las plantas con ácidos fenólicos tienen actividad colerética, diurética e inmunoestimulante, antiinflamatoria, analgésica y antipirética (Barrera, 2004).



**Taninos.** Los taninos son compuestos fenólicos poliméricos que se unen a proteínas desnaturalizándolas y se encuentra en dos categorías: taninos condensados y taninos hidrolizables (Cruz, 1995), también son polímeros de unidades de flavonoides unidas por enlaces C-C, que no pueden ser hidrolizados, pero si oxidados por un ácido fuerte para rendir antocianidinas, los taninos hidrolizables son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, sobre todo ácido gálico y azúcares simples, sus propiedades farmacológicas poseen actividad astringente, antihemorrágico, antiséptica, antidiarreico, antiinflamatorio, tónico vasoconstrictores, antimicrobianos, antifúngicos, inhibidores enzimáticos, antídotos de alcaloides y metales pesados (Bruneton, 2001).

#### 2.2.4 La candidiasis

Es una enfermedad micótica oportunista producida por el hongo levaduriforme dimórfico *C. albicans*, que a diferencia de otros pertenece a la flora normal del tracto digestivo, las vías respiratorias, la zona vaginal y la boca; en individuos sanos no es patógeno, sin embargo, si se altera la microbiota normal, llega a multiplicarse rápidamente produciendo candidiasis (Prescott *et al.*, 2009), asimismo se ha determinado que estas especies conforman un grupo importante de hongos patógenos que originan infecciones nosocomiales septicémicas adquiridas en los hospitales y superan a cualquier patógeno Gram negativo individual (Murray *et al.*, 2009). La candidiasis puede afectar a todas las personas de cualquier género y de cualquier edad, siendo la más común la candidiasis oral que en ocasiones se propaga por la faringe, laringe o por vía sanguínea, la cual puede producir cuadro grave al llegar a zonas profundas (Negroni, 2009).

***Candida albicans.*** Es un hongo diploide asexual con forma levaduriforme y saprófito, perteneciente a la familia Saccharomycetaceae (Murray *et al.*, 2009), los hongos del género *Candida* son levaduras, no presentan pigmentación carotenoide o melánico, producen pseudohifas o hifas verdaderas, son parte de la microflora oral normal de la cavidad bucal, en la lengua, paladar, mucosa oral, en el estómago, intestino, vagina y en el ambiente, presentan células de forma redondeadas u oval de 3 a 5  $\mu\text{m}$ , aerobias (Centurión, 2015), conforman el grupo más importante de hongos patógenos oportunistas, y son la cuarta causa más frecuente de infecciones nosocomiales septicémicas adquiridas en el hospital y superan a cualquier patógeno Gram negativo individual (Murray *et al.*, 2009).



Existen más de 100 especies de *Cándida* que son patogénicas para los seres humanos, en donde la gran mayoría de ellas vive como comensal en la boca, el tracto gastrointestinal, aparato genitourinario y/o en la piel, "esperando" el momento propicio para que aumente su población y entonces generar molestias, es decir, son patógenos oportunistas que se hacen evidentes cuando el "equilibrio" se rompe o altera por algún factor (Ciudad, 2007), en donde *Candida albicans*, a veces se comporta como un saprofito y su aislamiento no implica por sí solo la presencia de infección, no sobrevive durante mucho tiempo en superficies secas pero su supervivencia es mayor cuando hay humedad y se ha aislado de los cepillos dentales, cremas de manos, cosméticos y ropa (Berkhout, 2002).

#### **Ubicación taxonómica:**

Reino	: Fungi
Filo	: Ascomycota
Subfilo	: Saccharomycotina
Clase	: Saccharomycetes
Orden	: Saccharomycetales
Familia	: Saccharomycetaceae
Género	: <i>Candida</i>
Especie	: <i>Candida albicans</i> (Garza, 2012).

**Morfología.** Tienen una forma de levaduriformes ovaladas (3 a 5  $\mu$ m), forman yemas o blastoconidias, también pseudohifas, genera tubos germinales y clamidoconidias terminales de pared gruesa (Murray *et al.*, 2009), en condiciones *in vitro*, dan lugar a colonias lisas en forma de domo de color blanco a crema, en donde *Candida albicans* sufre modificaciones fenotípicas (Sandner y Mata, 1972).

**Patogenia.** La actividad patógena causada por hongos que conforman la microflora normal de las mucosas humanas, es diferente comparándolas con aquellos hongos que se encuentran dispersos en el medio ambiente (Munayco, 2011), afirma que *Candida albicans* presenta factores de patogenicidad que permiten y facilitan la colonización y la infección del hospedador, con más frecuencia de lo que ocurre con otras especies de *Candida* (Liébana, 1995), se ha determinado que las especies del género *Candida* conforman el grupo más importante de hongos patógenos oportunista, por lo tanto en





1980 y la actualidad, la frecuencia de infección por *Candida* se ha incrementado a un ritmo constante en hospitales de cualquier tamaño y en todos los grupos de edades (Ryan *et al.*, 2011).

El mecanismo de acción patógena de los hongos para el hombre y para los animales se da por tres mecanismos principales:

1. Invasión y proliferación en los tejidos, con la producción de una respuesta inmune específica frente a los antígenos fúngicos.
2. Liberación de toxinas.
3. Sensibilización con desarrollo de una respuesta alérgica (Negroni, 2009).

**Estructura molecular de *Candida albicans*.** Las células de *Candida albicans* tienen una pared celular rígida externa a la membrana citoplásmica, cuya constitución química difiere de las plantas y bacterias, sus membranas citoplásmicas poseen esteroides con dominancia del ergosterol, en tanto que en células de mamíferos es el colesterol (Murray, 2007), las manoproteínas son polímeros de manosa (manano) que se encuentran en la superficie de la matriz estructural de la pared celular, donde se encuentran unidas a proteína y son los principales determinantes de la especificidad serológica por las variaciones en la composición y uniones de las cadenas laterales de polímeros, los glucanos son polímeros de glucosilo, algunos de los cuales forman fibrillas que incrementan la fuerza de la pared de las células micóticas, asociada con quitina, compuesta de cadenas largas, no ramificadas, de poli-N-acetilglucosamina (Ryan *et al.*, 2011).

**Cultivo de *Candida albicans*.** El medio de cultivo debe contener agua, sales, nitrógeno que se obtienen de nitratos, sales de amonio y proteínas, además debe tener carbono que se obtiene de los 28 polisacáridos, disacáridos, monosacáridos o alcoholes, minerales como los fosfatos de sodio, fosfato de potasio, sulfato ferroso, sulfato de amonio, sulfato de magnesio y cloruro de sodio (Negroni, 2009), se desarrollan muy bien en medios de cultivo que contengan agar, peptona, dextrosa, maltosa o sacarosa (Pardi y Cardozo, 2002), se forman colonias cremosas después de la incubación, a temperatura de 21 a 37°C y después de unos días de crecimiento las colonias contienen principalmente formas de Y en la superficie; sin embargo dentro del agar crecen tanto micelios como pseudomicelios (Rodríguez, 2006).



En medios de cultivo de agar Sabouraud al término de 24 horas a 37 °C o a temperatura ambiente, las especies de *Candida* forman colonias blandas de color crema con olor a levadura y las pseudohifas se definen por proliferar en un plano por debajo de la superficie del medio de cultivo (Saravia y Guillinta, 2012), los cultivos en medios micológicos estándar se emplean con la finalidad de aislar el microorganismo para su posterior identificación a nivel de especie (Murray, 2007).

**Diagnóstico.** Es necesaria la obtención de material clínico adecuado para su estudio mediante microscopia directa y cultivo, las muestras de raspado de las lesiones mucosas o cutáneas se examina directamente después de ser tratadas con hidróxido de potasio (KOH) al 10% o el 20% que contenga blanco calcoflúor (Brooks *et al.*, 2011), cuando se sospecha que hay presencia de candidiasis se realiza exámenes microscópicos, cultivos e identificación y de cavidad bucal es necesario realizar un raspado en la zona de la lesión con un hisopo (Negroni, 2009).

**Tratamiento.** El más recomendado son antimicóticos polienos entre los cuales tenemos a la nistatina y la anfotericina B que son fungicidas y tienen un espectro muy amplio, administrados tópicamente, por vía oral en suspensiones, pastilla o intravenosa, otro tipo de antimicóticos son los azoles que son fungistáticos estos son fluconazol e itraconazol (Marsh, 2011), las infecciones mucosas y cutáneas se tratan por cremas tópicas, lociones, pomadas y supositorios, en donde el tratamiento sistémico es por vía oral se basa en la administración de Fluconazol o Itraconazol (Murray, 2007).

El fluconazol, constituye el más representativo de los triazoles, presentando ventajas al ketoconazol como su absorción distribuyéndose fácilmente a la barrera hematoencefálica alcanzando altas concentraciones en el líquido céfalo raquídeo, es útil en el tratamiento de la candidiasis orofaríngea y esofágica incluyendo en pacientes con candidiasis diseminada en pacientes granulocitopénicos (Torres, 2005), su mecanismo de acción está dado porque generalmente los azoles se unen a la enzima C14-alfa-demetilasa, e inhiben la transformación de lanosterol en ergosterol, en donde esta inhibición va a alterar la fluidez de la membrana, aumentando la permeabilidad y produciendo una inhibición del crecimiento celular y de la replicación (Rodríguez, 2002), la enzima C14-alfa-demetilasa, esta acoplada al citocromo P- 450, esta inhibición del citocromo P- 450 es responsable de



los efectos adversos que los imidazoles pueden causar en seres humanos y la afinidad por el P- 450 de los mamíferos es menor en el caso de los Triazoles (Rivas y Cardona, 2009).

**Mecanismos de resistencia antifúngica en *Candida albicans*.** La infección por *C. albicans* va a depender de diversos factores de virulencia, particularmente de su capacidad de adhesión. Esta capacidad es esencial para la patogenicidad porque favorece la formación de un complejo denominado biopelícula que le permite adherirse firmemente propiciando la invasión y diseminación de la infección, actuando como un importante mecanismo de resistencia antifúngica (Guando *et al.*, 2008). Existen estudios que reportan una mayor resistencia de células en biopelículas en comparación con las que crecen en suspensión, los cuales sugieren que la formación de capas de células confiere protección los microorganismos en las capas internas (Dhale *et al.*, 2014).

En cuanto a las características genómicas de *C. albicans* relacionadas con resistencia, se han descrito mutaciones en los genes que codifican para la síntesis de ergosterol de la membrana plasmática, o bien con la sobreexpresión de genes que codifican para bombas de expulsión de fármacos fuera del microorganismo (Cowley *et al.*, 2014) Existen dos mecanismos por los que *Candida* puede adquirir resistencia a un azol. El primer mecanismo se debe a mutaciones moleculares de la enzima diana del antifúngico, como la alteración de las enzimas relacionadas en la síntesis del ergosterol; el segundo mecanismo se debe a la formación de barreras de permeabilidad o sistemas de bombeo del antifúngico fuera de la célula, como la alteración en las bombas de expulsión: ATP-binding cassette (ABC) y facilitadores mayores (MF) (Ortigoza y Arroyo, 2014).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 TIPO DE ESTUDIO

La investigación fue de tipo experimental y analítico de corte transversal.

#### 3.2 POBLACIÓN DE MUESTRA

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, en tal razón las muestras de plantas de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* a experimentar fueron de 12 atados de plantas medicinales que se compraron frescos en los mercados de la ciudad de Puno, los cuales fueron conjuncionadas, secadas y semi machacadas con el mortero, en hojas y tallos de las plantas, a partir de ellos se obtuvieron las decocciones e infusiones en 5 concentraciones diferentes, haciendo un total de 33 unidades experimentales, tal como se observa en la tabla 1.

**Tabla 1.** Distribución del número de muestras a evaluar en la investigación.

Meses de muestreo	Tratamientos										Control positivo	Total
	<i>Minthostachys</i>					<i>Xanthium</i>						
	1	10	30	50	100	1	10	30	50	100		
Setiembre	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	11
Octubre	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	11
Noviembre	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	11
<b>Total</b>	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	33

#### 3.3 METODOLOGÍA

**3.3.1 Determinación de la composición fitoquímica cualitativa de alcaloides, fenoles y taninos en biomasa seca de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum*.**



### a. Frecuencia y muestreo

Las hojas y tallos de las plantas de *Minthostachys setosa* (muña) y *Xanthium catharticum* (espina de perro), fueron adquiridos en los mercados Unión y Dignidad, Laykakota y Central de la ciudad de Puno, los 12 atados de plantas medicinales fueron adquiridos cada sábado luego de la aprobación del proyecto, a partir de ellos se obtuvieron las decocciones e infusiones en 5 concentraciones diferentes.

### b. Descripción detallada de los equipos y materiales por objetivo específico

Para la determinación de alcaloides, fenoles y taninos, se realizó el método colorimétrico, y para ello se realizó el siguiente procedimiento:

**Identificación de alcaloides.** Se transfirió 5 ml de la decocción y la infusión a investigar a un tubo de ensayo, al que se le agregó 2 ml del reactivo de Dragendorff, luego de homogenizarlo se procedió a realizar la lectura visual considerando el rango de intensidad de la coloración, en el cual debió resultar con una coloración café rojiza para indicar positivo a la presencia de alcaloides (Medina, 1997).

**Identificación de fenoles.** Se transfirió en un tubo de ensayo 2 ml de  $\text{FeCl}_3$  al 5% y 5 ml de la decocción e infusión a investigar, luego de homogenizado se procedió a realizar la lectura visual, considerando el rango de intensidad de la coloración, en el cual debió resultar con una coloración verde oscura a la presencia de fenoles (Medina, 1997).

**Identificación de taninos.** Se transfirió en un tubo de ensayo 2 ml de  $\text{NaCl}$  al 5% y 5 ml de la decocción e infusión a investigar, luego de homogenizado se procedió a realizar la lectura visual, considerando la intensidad de la coloración de la disolución, en el cual debió resultar con una coloración crema (Medina, 1997).

Los alcaloides, los fenoles y los taninos, se visualizaron en el siguiente rango de coloración:

**Tabla 2.** Lectura de intensidad de color y rangos de evaluación para la evaluación fitoquímica (Medina, 1997).

Lectura	Rango
Color intenso	+++ muy abundante
Color regular	++ abundante
Color débil	+ leve

**c. Variables que se analizaron**

**Variable independiente:** Decocción e infusión de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum*.

**Variable dependiente:** Presencia de alcaloides, fenoles y taninos.

**d. Aplicación de pruebas bioestadísticas para contrastar las hipótesis**

No se consideró realizar análisis estadístico alguno, ya que se realizó estudios netamente descriptivos, tales como la presencia de coloraciones en la determinación de metabolitos secundarios de las plantas y su intensidad para evaluar cualitativamente la presencia de dichos metabolitos, tanto en las decocciones e infusiones.

**3.3.2 Evaluación de la actividad antimicótica *in vitro* de las decocciones e infusiones en concentraciones de 1, 10, 30, 50 y 100% de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* sobre *Candida albicans*.**

**a. Frecuencia y muestreo**

Una vez obtenidas las decocciones e infusiones al 1, 10, 30, 50 y 100% de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* y el cultivo puro de *Candida albicans*, los procedimientos de evaluación de la actividad antimicótica *in vitro*, se realizaron cada 15 días, luego del cual se obtuvieron los promedios para cada tratamiento.

**b. Descripción detallada de los equipos y materiales por objetivo específico**

Cada una de las plantas medicinales experimentadas pasaron por los siguientes procedimientos:

**Obtención de las decocciones e infusiones de las plantas.** Previamente las



estructuras áreas de las plantas medicinales *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* fueron secados en sombra y a temperatura ambiente, luego se cortaron en trozos pequeños, hasta completar 2.5 g del material vegetal (hojas u hojas y tallos), lo cuales fueron agregados con 250 mL de agua destilada.

**Obtención de las concentraciones.** Para la obtención de infusiones, en un matraz conteniendo 100 mL de agua destilada en ebullición durante 10 minutos se agregó 1 g de materia seca de la planta a evaluar, así se obtuvo una infusión al 1%, para obtener la solución al 10% se mezcló 10 g en 100 mL de agua destilada hirviendo, para obtener la solución al 30% se mezcló 30 g en 100 mL de agua destilada hirviendo, para obtener la solución al 50% se mezcló 50 g en 100 mL de agua destilada y para obtener la solución al 100% se mezcló 100 g en 100 mL de agua destilada, de similar forma se realizó para la decocción, con la diferencia que se hizo hervir por un lapso de 5 minutos, posteriormente se procedió a filtrar el extracto acuoso con papel filtro Whatman (Saldaña *et al.*, 2012).

**Evaluación de la actividad antimicótica *in vitro*.** Los procedimientos aplicados, fueron los realizados por Cano (2007), los cuales se basaron en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio sólido, y posteriormente se evidencia por la formación de halos claros. La cepa fúngica de *Candida albicans* fue cultivada en 20 mL del medio agar dextrosa Sabouraud previamente autoclavado a 121 °C, 15 libras de presión y 15 minutos, que luego fueron enfriados a 45 °C y plaqueados asépticamente.

A continuación, se prepararon las suspensiones fúngicas en un tubo de ensayo en el cual se adicionó 10 mL de la solución salina estéril, al cual se les agregó colonias de *Candida albicans* con ayuda de un asa de siembra estéril. Estas suspensiones fueron ajustados a estándar 0.5 de la escala de McFarland, con ella se obtuvieron suspensiones con una densidad micótica de  $1.5 \times 10^8$  células/mL.

En cada placa Petri de agar dextrosa sabouraud, con un hisopo estéril embebido en la suspensión micótica de  $1.5 \times 10^8$  células/mL, se realizó el cultivo sin dejar ninguna zona libre, mediante el deslizamiento del hisopo por la superficie del agar en forma rotativa y se pasó por último por la periferia del agar para conseguir una siembra

uniforme. Se dejó secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos, luego se rotuló con el nombre y la fecha de cultivo, a continuación, en la misma placa Petri se incluyó los discos de papel filtros impregnados con las concentraciones de 1%, 10%, 30%, 50% y 100% de la decocción e infusión de las plantas medicinales experimentadas, así como el control positivo de discos de fluconazol. Se dejó reposar por un periodo de 30 minutos a temperatura ambiente y luego se llevó a una temperatura de incubación de 28 °C por siete días (Lobaina *et al.*, 2010).

La evaluación de la actividad antimicótica de las decocciones e infusiones en porcentajes crecientes, se realizó midiendo los halos de inhibición fúngica (mm) con un vernier calibrado, asimismo se midió los halos en el control positivo (fluconazol) (Ochoa *et al.*, 2012).

### c. Variables que se analizaron

**Variable independiente:** decocciones e infusiones en concentraciones de 1%, 10%, 30%, 50% y 100% de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum*.

**Variable dependiente:** diámetros de halos de inhibición en *Candida albicans*.

### d. Aplicación de pruebas bioestadísticas para contrastar las hipótesis

El diseño experimental fue el bloque completo al azar. Para tratamientos fueron conformado por las concentraciones de las decocciones e infusiones (1%, 10%, 30%, 50% y 100%) de las dos plantas medicinales, fueron evaluados mediante un análisis factorial y pruebas de Tukey ( $P < 0.05$ ) (Ibáñez, 2009), si en caso existiera diferencia estadística significativa, y así elegir el mejor tratamiento. El modelo matemático a utilizar fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

$i = 1, 2, \dots, t$  (tratamientos) y  $j = 1, 2, \dots, r$  (repeticiones)

**Donde:**  $Y_{ij}$  = observación en la  $j$  – ésima unidad experimental, sujeto al  $i$  – ésimo tratamiento.  $t$  = efecto del  $i$  – ésimo tratamiento.  $\mu$  = efecto de la media general.  $\varepsilon_{ij}$  = efecto verdadero de la  $j$  – ésima unidad experimental (réplica), sujeta al  $i$  – ésimo tratamiento (error experimental).



## CAPÍTULO IV

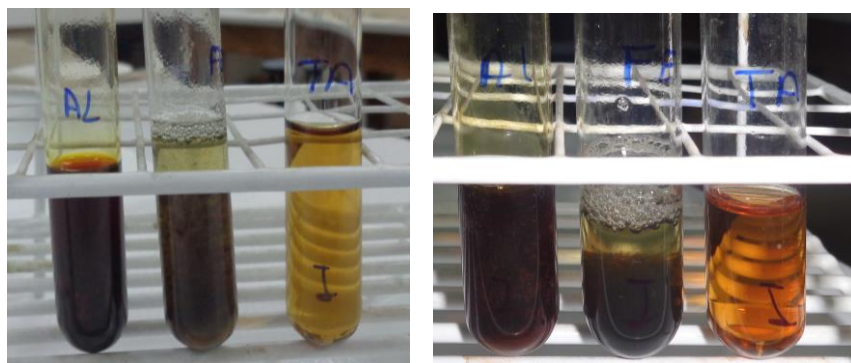
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA CUALITATIVA DE *Minthostachys setosa* Y *Xanthium catharticum*

El estudio fitoquímico cualitativo de las decocciones e infusiones a base de hojas y tallos de muña (*Minthostachys setosa*) (Figura 3), mostraron los siguientes resultados: las decocciones presentaron los alcaloides, los fenoles y taninos en forma abundante (++); por otro lado, las infusiones de la planta presentaron muy abundante (+++) contenido de alcaloides, y fenoles y taninos en leve concentración (+) (Tabla 3).

**Tabla 3.** Fitoquímica cualitativa de decocciones e infusiones de tallos y hojas de muña (*Minthostachys setosa*), laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre 2017.

Metabolito secundario	Decocción		Infusión	
	Intensidad	Contenido	Intensidad	Contenido
Alcaloides	++	Abundante	+++	Muy abundante
Fenoles	++	Abundante	+	Leve
Taninos	++	Abundante	+	Leve



**Figura 3.** Análisis fitoquímico preliminar de la decocción (izquierda) e infusión (derecha) de la muña, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, setiembre 2017.

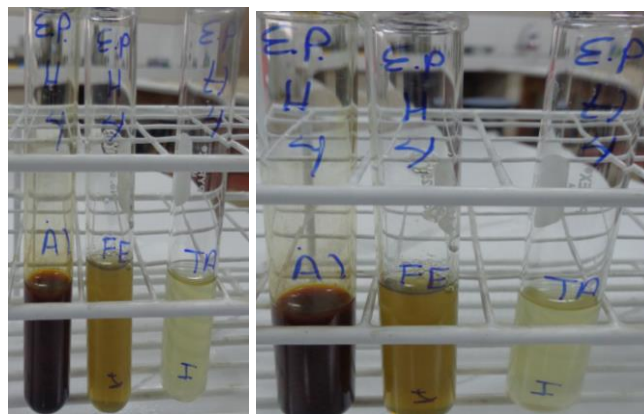
El estudio fitoquímico cualitativo de las decocciones e infusiones de espina de perro de a base de hojas y tallos de (*Xanthium catharticum*) (Figura 4), los resultados fueron: las decocciones presentaron los alcaloides muy abundantes (+++), los fenoles abundantes

(++) y taninos en forma leve (+); por otro lado, las infusiones de la planta presentaron muy abundante (+++) contenido de alcaloides, y fenoles y taninos en leve concentración (+) (Tabla 4).

Por otro lado, la muña (*Minthostachys setosa*) presentó una abundante (++) proporción de alcaloides, fenoles y taninos en las decocciones y muy abundante contenido de alcaloides (+++); leve (+) de fenoles y taninos en la infusión, de similar forma Cano (2007), obtuvo a diferencia de la investigación en aceites esenciales de *Minthostachys mollis* (muña) a los fenoles pulegona, limoneno, mentona y mircenol (monoterpenos) y con potencial actividad funguicida – fungistática.

**Tabla 4.** Fitoquímica cualitativa de decocciones e infusiones de tallos y hojas de espina de perro (*Xanthium catharticum*), laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre 2017.

Metabolito secundario	Decocción		Infusión	
	Intensidad	Contenido	Intensidad	Contenido
Alcaloides	+++	Muy abundante	+++	Muy abundante
Fenoles	++	Abundante	+	Leve
Taninos	+	Leve	+	Leve



**Figura 4.** Análisis fitoquímico preliminar de la decocción (izquierda) e infusión (derecha) de la espina de perro, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre 2017.

En la planta medicinal espina de perro (*Xanthium catharticum*), el contenido de alcaloides fue muy abundante (+++), fenoles y taninos fue leve (+), lo cual coincide con Waizel y Martínez (2011), quienes en México en infusión o cocimiento de *Xanthium canadense*



Miller., *Xanthium strumarium* L. *Xanthium chinense* Miller y *Xanthium orientale* L. encontraron metabolitos secundarios como los aceites esenciales, ácidos orgánicos, alcaloides, carotenos, fenoles, fitoesteroles, flavonoides, glicósidos, lactonas (cumarinas), lignanos, mucílagos, pectinas, polisacáridos, quinonas, saponinas y taninos.

A diferencia de Pauer *et al.* (2018), en *Minthostachys mollis* presentó alcaloides en cantidades abundantes (++); para fenoles *M. mollis* presentó muy abundante (+++), siendo diferentes a la planta espina de perro, la muña (*Minthostachys setosa*), presentó similares contenidos de dichos metabolitos. Los metabolitos secundarios, son compuestos químicos no vitales para las plantas, pero elaborados como parte de su metabolismo normal y son responsables de los efectos medicinales que las plantas poseen, entre ellos los compuestos químicos son los alcaloides y los fenoles, las cuales pueden originar diversos efectos fisiológicos en el ser humano (Silva *et al.*, 2015).

La presencia de los metabolitos secundarios, que son los que originan los efectos fisiológicos, se encuentran influenciados por el genotipo de la planta (la especie y la variedad), las características ambientales (la radiación solar y la disponibilidad de agua), la velocidad de crecimiento, la madurez, la condición nutricional del suelo, la depredación y las enfermedades (Waterman y Mole, 1994), así como también, la aparición de los metabolitos secundarios está relacionada con los mecanismos de defensa de la planta y los efectos del suelo y del clima (Harborne, 1993), asimismo, la colecta ya que no debe realizarse durante la lluvia o posterior a esta, un correcto y cuidadoso almacenamiento, un adecuado manejo de las plantas y su adecuada identificación botánica (Rico *et al.*, 2014), la procedencia geográfica, la altitud a la que creció la planta, la estación o temporada de cosecha y el clima presente durante la colecta pueden afectar la calidad de la planta estudiada (Alcalá *et al.*, 2011).

El consumo de una infusión es recomendada entre los 1.5 y 2 g de la planta, por lo que el consumo de las decocciones e infusiones de muña en altas cantidades debe tener con mucha cautela sin exagerar su consumo, en razón de que se debe tener certeza de la presencia de sus principios activos y las consecuencias de su consumo, motivo de realizar la presente investigación de tesis ya que son plantas muy consumidas en la ciudad de Puno, en razón de que pueden provocar efectos no deseados o desconocidos por el consumidor, como el aceite esencial de muña, comprobado como antimicótico (Torrenera



*et al.*, 2016), sobre el hongo *Candida albicans* y su actividad antibacteriana (Carhuapoma *et al.*, 2009), que puede ser explicado debido a la presencia de terpenoides en el fluido.

En la investigación se realizó con materia fresca de las dos plantas medicinales, lo cual es recomendado en el procesamiento de estudios fitoquímicos y el paso más importante en el tratamiento de las drogas vegetales, en razón de que un exceso de agua provocaría el crecimiento microbiano, desencadenando en la presencia de hongos seguido del hidrólisis de los principios activos (Miranda y Cuéllar, 2001) y el secado interrumpe los procesos de degradación iniciado por enzimas (Pérez *et al.*, 2011). El tamizaje fitoquímico manifiesta la presencia de compuestos reductores, alcaloides y fenoles y/o taninos, flavonoides y saponinas y es una técnica ampliamente usada para apreciar la composición de las drogas vegetales, lográndose una valoración cualitativa de la composición química de la planta y que pueden ser considerados como un resultado concluyente, ya que varía la presencia o ausencia de un metabolito mediante la concentración de los mismos, su solubilidad en el disolvente utilizado y las interferencias de otros componentes (Mena *et al.*, 2016).

Las dos plantas evaluadas (*M. setosa* y *X. catharticum*), presentaron variaciones en el contenido de alcaloides, fenoles y taninos, lo cual se debería probablemente al clima ya que influye en la producción cuali y cuantitativa de los metabolitos, ya que en follajes de plantas tropicales de menor altitud, se determinaron contenidos leves de fenoles y taninos (Levin y York, 1978), en contraste en plantas de la selva africana (ecosistemas oligotróficos) se determinó mayores cantidades de fenoles que aquellas recolectadas de los sistemas eutróficos, debido a que poseen altos contenidos de nutrientes; por otro lado, Macías y Galindo (2001), manifiestan que los climas desérticos o semidesérticos con altas temperaturas, baja pluviosidad y nieblas o rocíos intensos, e influyen en la producción de moléculas aromáticas en las plantas, los cuales se localizan en los tricomas del envés de las hojas, Karousou *et al.* (2005), en las plantas *Coridothymus capitatus* L. y *Satureja thymbra* Briq., lograron el hallazgo de altos contenidos de carvacrol en planta de colectadas en tierras de mayor altitud que en menor altitud, por lo que se afirmarían que las plantas que sufren de estrés o condiciones adversas para su desarrollo, poseerían mayor contenido de metabolitos secundarios.

En la investigación se trabajó con toda la planta para las decocciones y las infusiones, en



algunas plantas los principios activos se producen en toda la planta, en otras selectivamente en cada órgano de la planta como ocurre con la canela (*Cinnamomum zeylanicum*), el cual en su corteza del tallo se producen altas concentraciones de aldehído cinámico y en sus hojas existe gran cantidad de eugenol y en la corteza de la raíz predomina el camfor (Senanayake *et al.*, 1978), en la avena (*Avena sativa* L.) y el sorgo (*Sorghum vulgare* L.), sus raíces concentran la avenacina que inhibe el *Gaeumannomyces graminis* (Mansfield, 1983); en dentro de las células los sesquiterpenos, triterpenos y esteroides son producidos en el retículo endoplásmico, los monoterpenos en los plástidos y las aminas y alcaloides dentro de las mitocondrias (Sepúlveda *et al.*, 2003).

Según Zangerl y Bazzaz (1992) las plantas concentran sus defensas en sus órganos reproductivos ante las plagas, como los terpenoides, donde la producción de metabolitos generalmente se realiza en época de mayor actividad de los patógenos o parásitos, tal como se obtuvo con el alcaloide perlonina en la especie *Festuca arundinaceae* Schreb. (Macias y Galindo, 2001) inclusive se concentra en algunos meses, la edad de la planta es otro factor que influiría en la producción de metabolitos como es el caso del tomillo de 5 años de edad logró producir 0.15% de aceite total, donde la mayor cantidad de timol y carvacrol lo sintetiza entre mayo y junio, por otro lado, plantas de 2 años de edad producen aceite en 1.2%, con timol y el carvacrol incrementado al finalizar el ciclo vegetativo entre junio y julio (Hudaib *et al.*, 2002), otro caso se tiene que el aceite esencial del pasto limón colectado durante los meses de enero a abril se usa en la India contra *Aspergillus flavus* (Mishra y Duvey, 1994) e inclusive la producción puede variar incluso en un mismo día tal como sucede con los alcaloides de la amapola *Papaver somniferum* (Fairbarin y Wassel, 1964) o como en huele de noche (*Cestrum nocturnum* L.) que libera compuestos aromáticos es en la noche. Dichos parámetros ambientales, forma de colecta, conservación no fueron considerados en la investigación.

#### 4.2 ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA *IN VITRO* DE LAS DECOCCIONES E INFUSIONES DE *Minthostachys setosa* Y *Xanthium catharticum* SOBRE *Candida albicans*

Los halos de inhibición que originaron las decocciones de las plantas muña y espino de perro, fueron mayores a los obtenidos con las infusiones, los halos de inhibición se presentaron a partir de las concentraciones de 50% con 17 mm con decocción de muña y 15 mm con decocción de espina de perro, a 100% de decocción de muña se obtuvo un halo de inhibición de 18 mm y con decocción de espina de perro al 100% fue de 17 mm; en cuanto a la infusión los halos de inhibición fueron inferiores, donde la muña al 50% formó un halo de 6 mm y al 100% con 8 mm, con espina de perro al 50% formó un halo de 4 mm y al 100% con 6 mm (Tabla 5), asimismo no hubo halos de inhibición a concentraciones de las plantas entre 1% a 30%, todos los resultados fueron inferiores a los halos de inhibición producidos por el control positivo fluconazol.

**Tabla 5.** Halos de inhibición (mm) de decocciones e infusiones de muña y espina de perro sobre *Candida albicans*, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre 2017.

Concentraciones	Decocción		Infusión	
	Muña	Espina de perro	Muña	Espina de perro
100%	18	17	8	6
50%	17	15	6	4
30%	0	0	0	0
10%	0	0	0	0
1%	0	0	0	0
Fluconazol*	20	17	20	17

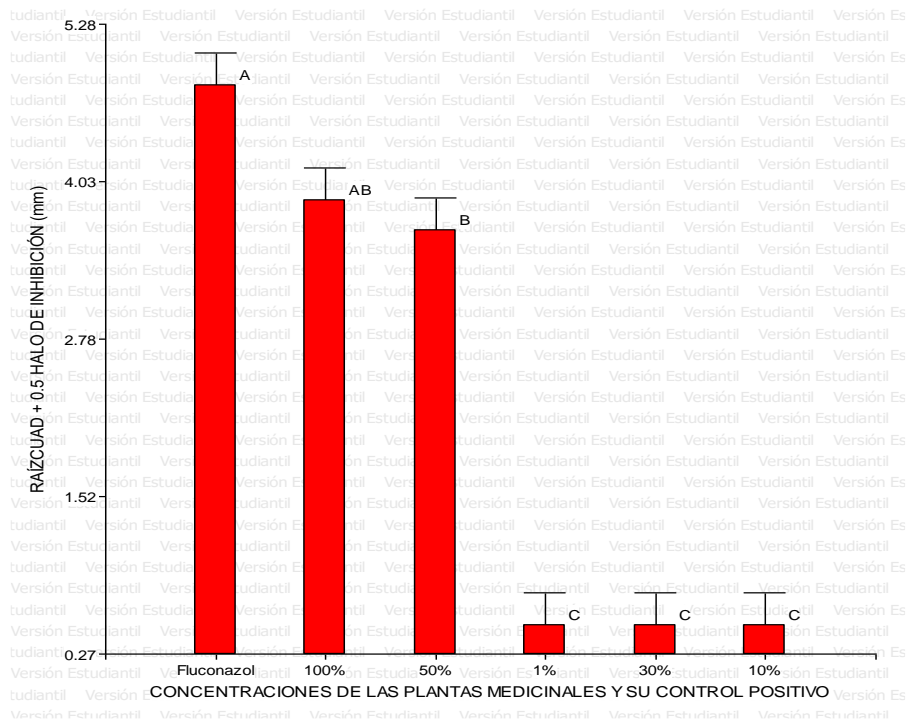
\*  $\geq 19$  mm Sensible; 15 a 18 mm intermedio;  $\leq 15$  mm resistente (Rosco Diagnóstica, 2011).

Al realizar el análisis factorial entre las formas de aplicación (decocción e infusión) y el fluconazol presentaron diferencia estadística significativa ( $P < 0.0001$ ), entre las plantas no presentó diferencia estadística significativa ( $P = 0.5828$ ), mientras que entre las concentraciones si presentó diferencia estadística significativa ( $P < 0.0001$ ) (Figura 5).



Al comparar las formas de aplicación (decocción e infusión) y el fluconazol, los halos de inhibición obtenidos presentaron diferencia estadística significativa, siendo mayor con el control positivo (fluconazol), mientras tanto entre los halos de inhibición de las decocciones e infusiones no presentaron diferencia estadística significativa. De similar forma con respecto a los halos de inhibición producidos por las plantas no presentaron diferencia estadística, pero ambos fueron inferiores a los halos de inhibición por el control positivo fluconazol. Entre las concentraciones frente al fluconazol, entre las concentraciones 1%, 30% y 10% no presentaron diferencia estadística significativa y entre el 50%, 100% y los halos de inhibición del control positivo fluconazol presentaron diferencia estadística significativa, siendo mayor con el control positivo.

Las decocciones de las plantas evaluadas originaron halos de inhibición en *Candida albicans* entre 15 mm y 18 mm, estos diámetros fueron inferiores a los obtenidos con extractos etanólicos de *Schinus molle* sobre *Candida albicans* con halos de inhibición  $\geq 20$  mm y con el fluconazol  $\geq 31$  mm (Saravia y Guillinta, 2012), asimismo a los halos de 30 mm al 100% de aceite esencial de muña y 35 mm al 50% (Cano, 2007), y a los aceites esenciales (AE) de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Candida albicans* que originaron halos de inhibición máximos de 20 mm con 25% de AE, 14 mm al 50% de AE, 20 mm al 75% de AE y 20 mm al 100% de AE, comparando con la nistatina que originó 10 mm (Chamba, 2015), el extracto etanólico de *Psidium acutangulum* fue el más activo contra los hongos evaluados (*Candida albicans*, *Sporothrix schenckii* y *Trychophyton mentagrophytes*), en la que se identificó a la 3'-formil-2',4',6'-trihidroxidihidrochalcona, que mostró actividad inhibitorias de los hongos *Cryptococcus neoformans*, *S. schenckii* y varias especies de *Candida* (Wen *et al.*, 2011).



**Figura 5.** Prueba de Tukey de los halos de inhibición (mm) obtenidos por concentraciones de decocciones o infusiones de plantas sobre *C. albicans*, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre 2017.

Los resultados obtenidos en la investigación, también fueron inferiores a los halos de inhibición de la muña al 25% con 32 mm, al 50% con 40 mm y al 100% con 46.8 mm y con fluconazol con 39 mm (Alcalá *et al.*, 2011), el aceite esencial de *Origanum vulgare* originó un halo de inhibición de 45.73 mm y 46.35 mm respectivamente, el cual fueron mayores a la nistatina de 17.83 mm pero similares a los obtenidos con la *Mentha piperita* de 18.85 mm y 19.88 mm (Colpa, 2016).

Los resultados obtenidos en la investigación fueron superiores a los halos de inhibición de 6.46 mm, 10.96 mm, 14.75 mm y 16.5 mm para los extractos hidroalcohólicos de *Uncaria tomentosa* al 25%, 50%, 75% y 100% (Cadena *et al.*, 2017), el extracto alcohólico de *Thymus vulgaris* (tomillo) al 25% con halos de inhibición con un promedio de 11.0 mm; al 50% un promedio de 10.33 mm; al 75% un promedio de 12.00 mm y al 100% con 13.33 mm (Nieto, 2018) y los halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) con 3.4 mm; 11.1 mm; 15.7 mm; 19.0 mm; 24.1 mm; del 1mL/250µl fue de 29.2 mm y del grupo de Fluconazol 25.5 mm (Salas, 2016).

La actividad antifúngica a altas concentraciones especialmente de las decocciones de las





plantas, se debería al contenido de sus metabolitos secundarios, en ellos se mencionan a los terpenos quienes son los más importantes responsables de la actividad antimicrobiana dentro de los aceites esenciales, cuyo efecto antimicrobiano se basa en la habilidad de dañar biomembranas (Montes, 2009), por otra parte debido a sus características lipofílicas los terpenos interactúan con las enzimas de la membrana interfiriendo los procesos vitales como la ósmosis, la síntesis de esteroides y fosfolípidos (Lucini *et al.*, 2006), asimismo los alcoholes fenólicos (timol, carvacrol y eugenol) son fuertes inhibidores de los procesos enzimáticos, debido a que poseen su característica lipofílica y sus grupos OH libres (Pepeljnjak *et al.*, 2003), otro terpeno denominado como cineol reduce la división celular y que el limoneno, el  $\alpha$ -pineno y el  $\beta$ -pineno inhiben el consumo de oxígeno en las células (Peñuelas *et al.*, 1996), el 1-8 cineol inhibe la respiración mitocondrial, la fosforilación oxidativa y la síntesis de ADN (Koitabashi *et al.*, 1996) y los isotiocianatos reaccionan con las proteínas de los hongos, ocasionando su inactivación mediante su unión al grupo amino del aminoácido lisina o con el grupo sulfhidrilo de la cisteína (Tiznado *et al.*, 2006).

Por otro lado, las plantas también poseen diversos mecanismos antifúngicos, como las saponinas que poseen la habilidad de formar complejos con los esteroides en las membranas de los hongos ocasionando su desintegración de la membrana (Morrissey y Osbourn, 1999), los compuestos fenólicos inhiben las enzimas reaccionando con grupos sulfhidrilos que poseen los aminoácidos, por otro lado, las quinonas, flavonas, flavonoides, taninos y flavonoles forman complejos con los aminoácidos nucleofílicos de las proteínas conduciendo a su inactivación (Murphy, 1999), asimismo entre los alcaloides llamados cuaternarios poseen la atribución de intercalarse en el ADN originando múltiples efectos en la fisiología del microorganismo, muchos hongos secretan enzimas hidrolíticas que se difunden en las células del hospedero antes del avance de los microorganismos, este proceso puede ser inhibido por radicales libres de fenoles oxidados que funcionan como inhibidores no específicos, entre ellos la cianidina, delfinidina y malvidina (Schlösser, 1980).

En estudios antifúngicos pero sobre otras especies de hongos, mencionan al ácido gálico de poseer acción sobre la polifenoloxidasas de algunos hongos saprófitos y fitopatógenos produciendo la acumulación de productos de oxidación, los tuliposidos del tulipán inactivan las enzimas con grupos SH como los que poseen los hongos *Fusarium*



*oxysporum* (Overeem, 1976), la alicina del ajo se unen a los grupos tiol de las proteínas (Slusarenko, 2008), en realidad las proteínas y los polipéptidos antifúngicos tienen mecanismos de acción muy variados, los que pueden incluirse la degradación de los polímeros de sus paredes celulares, de los canales proteicos de la membrana, sufren la degradación de los ribosomas e inhiben la síntesis de ADN, entre otros metabolitos cuyo modo de acción todavía no se conoce (Selitrennikoff, 2001).

Algunas plantas poseen principios activos con actividad antifúngica, entre ellos se encuentran los derivados de floroglucinol, xantonas, hiperbrasilonas, entre otros compuestos (Vega *et al.*, 2012), Ruiz (2009), al evaluar ocho plantas medicinales, detectaron la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, quinonas y saponinas, los cuales coinciden con los resultados de la presente investigación en las decocciones e infusiones de las plantas muña y espina de perro, pero dichos compuestos fitoquímicos pueden variar según los órganos, en las partes aéreas de *Hypericum laricifolium* presenta taninos, flavonoides y saponinas, en otras plantas como en la corteza de *Juglans neotrópica* se encontraron quinonas, compuestos fenólicos, taninos y cumarinas (Valencia, 1995), otros órganos como las hojas de *Piper lineatum* poseen abundante presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, cumarinas y alcaloides y en otras plantas como en todos sus órganos o planta entera de *Senna reticulata* Wild. se determinó la presencia de saponinas y quinonas con ausencia de compuestos fenólicos (Villacreces, 2011).



## V. CONCLUSIONES

- La composición fitoquímica cualitativa de *Minthostachys setosa* fue en decocción los alcaloides, fenoles y taninos leves (+), en infusión los alcaloides muy abundantes (+++) y fenoles y taninos leves (+), mientras que la decocción de *Xanthium catharticum* presentó muy abundantes alcaloides (+++), fenoles abundantes (++) y taninos leves (+) y la infusión presentó muy abundante contenido de alcaloides (+++), mientras que los fenoles y taninos fue leve (+).
- La actividad antimicótica *in vitro* de las decocciones de tallos y hojas de *Minthostachys setosa* (muña), se presentaron a concentraciones de 50 y 100%, lográndose halos de inhibición de 50% se obtuvo 17 mm y a 100% 18 mm, las decocciones de tallos y hojas de *Xanthium catharticum* (espina de perro), originó halos de inhibición 15 mm en 50% y 17 mm en 100%, siendo superiores a los halos de inhibición obtenidas con infusión de ambas plantas ( $P > 0.05$ ), ambos no superaron al control positivo de Fluconazol.



## VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios acerca de la composición fitoquímica cuantitativa a partir de plantas cultivadas en campo e invernadero, altitud de producción, forma de secado, entre otros aspectos para diferenciar si el factor ambiental afecta en el contenido de metabolitos secundarios presentes en las plantas.
- Realizar una comparación del efecto antimicótico de plantas, con cepas de *Candida albicans* previamente evaluadas si poseen o no resistencia a los antifúngicos convencionales, así como trabajar con cepas de *C. albicans* ATCC.



## VII. REFERENCIAS

- Alcalá K., Alvarado A., Alejandro L., Huayané E. (2011). Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) comparado con el fluconazol en cultivo de *Candida albicans*. CIMEL. Vol. 16 (2): 83 – 86.
- Alcalá M., Alvarado G., Paredes A. y Linares H. (2011). Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) comparados con el fluconazol en cultivo de *Candida albicans*. Rev. CIMEL. Vol. 16 (2): 83 – 86.
- Alonso J. (2006). Plantas medicinales autóctonas de la Argentina. Bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud. Buenos Aires: Fitociencia.
- Ávalos A. y Pérez E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Reducida serie fisiología vegeta. Vol. 2 (3): 119 – 145.
- Bardales A, Yarlequé M, Rueda L. (1999). Estudio biológico y Fitoquímica del extracto alcohólico de *Minthostachys mollis* "Muña". I Congreso Internacional de Biología - XIII Congreso Nacional de Biología- VII Simposium de Educación en Ciencias Biológicas. Lima: Perú.
- Barrera V., Tapia C. y Monteros A. (2004). Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Ecuador: International Potato Center.
- Berkhout R. (2002). *Candida albicans*. Revista Iberoam Micol. 25-26.
- Brack A. (1999). Diccionario enciclopédico de plantas medicinales del Perú. Editorial PNUD y Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas. Cusco – Perú. 550 p.
- Brooks Jawetz, Melnick y Adelberg (2011). Microbiología Médica. 25ª edición. McGraw Hill. México.
- Bruneton J. (2001). Fitoquímica: plantas medicinales. (2a ed.). España: Editorial Acribia S.A.
- Burt (2004). Essential oil their antibacterial properties and potencial applications in foods. Internacional journals of food microbiology. 99 (1).
- Cáceda F. (1999). Flora Medicinal Nativa y Cosmovisión Campesina en Comunidades de Puno. Editorial Universitaria. Puno. Editorial CopiTesis y Gráficos Edit. Universitaria. Escuela de Postgrado, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú.



- Cáceda F. y Rossel (1993). Flora medicinal nativa y cosmovisión campesina en comunidades de Puno. Editorial CopiTesis y Gráficos Edit. Universitaria. Escuela de Postgrado, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú.
- Cáceres A. (1996). Plantas de uso medicinal en Guatemala. Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos de Guatemala. 402 p.
- Cadena K., Pazán P. y Farfán A. (2017). Efecto antifúngico de diferentes concentraciones del extracto de *Uncaria tomentosa* sobre *Candida albicans*: estudio in vitro. Rev. Odontología. Vol. 19, (2): 30 – 39.
- Cano C. (2007). Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* “muña”. Tesis de Maestría en Recursos Vegetales y Terapéuticos. Unidad de Post Grado, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú. 59 p.
- Cañar E. y Paguay E. (2017). Estandarización de la técnica de microdilución de actividad antifúngica de extractos hidrofílicos y lipofílicos de plantas medicinales frente a *Candida albicans* ATCC 90028. Tesis de Bioquímica Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca. Cuenca – Ecuador. 81 p.
- Carhuapoma M, López S, Roque M, Velapatiño B, Bell C, Whu W. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb “ruyaq muña”. Ciencia e Investigación. 2009; 12(2): 83-89.
- Castañeda J. (2016). Efecto antifúngico del extracto etanólico de las semillas de *Foeniculum vulgare* Mill. sobre cepa *Candida albicans* ATCC 10804 in vitro. Tesis de Médico Cirujano. Facultad de Medicina Humana, Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo – Perú. 52 p.
- Centurión K. (2015). Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Tesis de maestría. Trujillo: UPAO.
- Chamba L. (2015). Efecto antifúngico del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa), sobre cepas de *Cándida albicans* en comparación con la nistatina estudio in vitro. Tesis de Odontólogo. Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador. Quito – Ecuador. 77 p.
- Chang L., Rosabal Y. y Morales J. (2013). Composición fitoquímica de los tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. Rev Cub de Plant Med. Vol. 18 (1): 10 – 16.



- Ciudad A. (2007). Infecciones vaginales por *Candida*: Diagnóstico y tratamiento. Rev. Per Ginecol. Obstet. 53: 159-166.
- Colpa M. (2016). Efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y *Mentha piperita* (menta) frente a cepas de *Candida albicans*, estudio in vitro, Lima 2016. Tesis de Cirujano Dentista. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Norbert Wiener. Lima – Perú. 77 p.
- Corso D. (2012). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. Trabajo científico. Rev. Mex. Cienc. Farm. Vol. 43 (3): 81 – 86
- Cowley S., Nobile C., Hartooni N., Newman D. y Johnson A. (2014). Anaerobic Bacteria Grow within *Candida albicans* Biofilms and Induce Biofilm Formation in Suspension Cultures. Curr Biol. Vol. 24 (20): 2411-2416.
- Davicino R., Mattar M., Casali Y., Correa S., Pettenati E. y Micalizzi B. (2007). Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. Rev. Peru. Biol. Vol. 14 (2): 247 – 251.
- Dhale R., Ghorpade M. y Dharmadhikari C. (2014). Comparison of various Methods used to detect Biofilm Production of *Candida* Species. J Clin Diagn Res. Vol. 8 (11): 18 – 20.
- Domínguez X. (2009). Métodos de investigación fitoquímico. España: Limusa.
- Duke J. ottesen J, Andrea R. (2008). Handbook of medicinal plants of latin America. Boca Raton CRC press.
- Flores K. (2017). Actividad antifúngica “in vitro” de aceite esencial y extracto alcohólico de *Mentha piperita* “hierba buena” sobre *Candida albicans* cepa ATCC 10231. Tesis de Odontóloga. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba – Ecuador. 87 p.
- Fournet A., Rojas de Arias, A., Charles, B. y Bruneton, J. (1996). Chemical constituents of essential oils of Muña, Bolivian plants traditionally used as pesticides, and their insecticidal properties against Chaga’s disease vectors. Journal of Ethnopharmacology. 52: 145-149.
- Fuertes C. y Munguía, Y. (2001). Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “Muña” de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. Ciencia e Investigación, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 4: 23–39.



- Garza E. (2012). Caracterización taxonómica y molecular de *Candida* spp. en aislados clínicos de origen bucal en pacientes sanos u diabéticos de Nuevo León. Repositorio de Tesis Universidad Autónoma de Nuevo León, 116.
- Guango M., Santander G. y Villamarín N. (2008). Micosis Invasiva. Medwave. Vol. 8 (11): 609 – 14.
- Guzmán M. (2018). Efecto antifúngico del aceite esencial de *Moringa oleífera* Lam. al 25, 50 y 100% frente a *Candida albicans* estudio *in vitro*. Tesis de Odontóloga. Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador. Quito – Ecuador. 81 p.
- Harborne J. (1993). Introduction to Ecological Biochemistry. 4th Edición. Academic Press, Harcomt Brace & Co. Publishers, New York, USA. 320 p.
- Huamaní M. y Ruíz J. (2005). Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú. Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 78 p.
- Ibañez V. (2009). Métodos estadísticos. Maestría en Ganadería Andina. Escuela de Post Grado, Universidad Nacional del Altiplano. Editorial Universitaria. Puno – Perú. 582 p.
- INS, Instituto Nacional de Salud (2013). Catalogo florístico de plantas medicinales peruanas. Lima.
- Jativa C., Marinoni G., De Bernardi M., Vidari G. y Vita P. (1991). New sesquiterpenes from *Xanthium catharticum*. J. Nat. Prod, 54:460-5.
- Kalemba D. y Kunicka A. (2003). Institute of General Food Chemistry, Technical University of Lodz, Poland Institute of Fermentation Technology y Microbiology, Technical University of Lodz, Poland. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils Current Medicinal Chemistry. 10, 813-829
- Koitababashi R., Suzuki T., Kawazu T., Sakai A., Kuroiwa H. y T. Kuroiwa (1997). 1,8-cinneole inhibits root growth and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* L. Journal of Plant Research 110: 1-6.
- Kuklinski Cl. (2000). Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosa de origen natural. Editorial Omega. Barcelona. 515 p.
- Liébana J. (1995). Microbiología oral. Madrid-España: McGraw Hill Interamericana ediciones.
- Lobaina T., Zhurbenko R., Rodríguez C., Zayas Y. y Rodríguez A. (2010). Identificación





- de especies de *Candida* de importancia clínica con un método auxonograma modificado. *Rev. Cubana Med. Trop.* Vol. 62 (1) 48 – 57.
- Lucini I., Zunino P., López M. y Zygadlo A. (2006). Effect of monoterpenes on lipid composition and sclerotial development of *Sclerotium cepivorum* Berk. *Journal of Phytopathology*. Vol. 154: 441-446.
- Marsh P. (2011). *Microbiología oral*. 5ta edición. Venezuela: editorial AMOLCA.
- Martínez C. y Cano A. (2009). Plantas medicinales con alcaloides en la provincia de Jaén. *Boletín Instituto de Estudios Giennenses*. N° 200: 125 – 163.
- Matissek. (2011). *Análisis de los alimentos fundamento métodos y aplicaciones*. Buenos Aires: Cosmopolita.
- Medina M. (1997). Estudio Fitoquímico de *Ephedra americana* H. y B. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa – Perú. 54 p.
- Mena Y., González D., Valido A., Pizarro A., Castillo O. y Escobar R. (2016). Estudio fitoquímico de extractos de hojas de *Cnidioscolus chayamansa* Mc Vaugh (Chaya). *Rev. Cubana Plant Medic.* Vol. 21 (4): 1 – 13.
- Miranda M. y Cuéllar A. (2001). *Farmacognosia y Productos Naturales*. La Habana: Editorial Félix Varela 2da Edición. p. 110.
- Montes R. (2009). Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Micología*. Vol. 29: 73 – 82.
- Montoya G., Osorio, E., Jiménez, N. y Arango, G. (2004). Actividad Captadora de Radicales Libres de Alcaloides de *Rollinia pittieri* (Annonaceae) por el Método del DPPH. *Rev. Vitae*. Vol. 11 (2): 1-10.
- Mostacero J., Castillo F., Mejía C., Gamarra T., Charcape R., Ramírez V. (2011). *Plantas Medicinales del Perú. Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica*. Asamblea Nacional de Rectores, Lima.
- Munayco E. (2011). Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal. Tesis previa obtención del título de odontólogo). Perú.
- Murray P., Rosenthal, K., y Pfaller, M. (2009). *Microbiología Médica*. Mosby Editorial. Sexta Edición.
- Negrón M. (2009) *Microbiología Estomatológica*. 2da ed. Buenos Aires: Ed. Medica panamericana.
- Neyra L. y Armas N. (2018). Evaluación in vitro de la actividad fungicida y fungistática



- del extracto metanólico de la *Minthostachys mollis* (muña) sobre la cepa de *Candida albicans* ATCC 1023. Tesis de Cirujano Dentista. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. 27 p.
- Nieto A. (2018). Actividad antifúngica del extracto alcohólico y aceite esencial de *Thymus vulgaris* “tomillo” sobre *Candida albicans*. Tesis de Magíster en Farmacia Clínica y Hospitalaria. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Regional Autónoma de Los Andes. Ambato – Ecuador. 100 p.
- Ochoa K., Paredes L., Bejarano D. y Silva R. (2012). Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). Rev. Scientia Agropecuaria. UNT. Trujillo – Perú. Vol. 3: 291 – 302.
- Ortigoza E. y Arroyo D. (2014). 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. Vol. 30 (40): 373 – 380.
- Overeem C., (1976). Pre-existing antimicrobial substances in plants and their role in plant disease resistance. In: Friend, J., R. Thelfal, Biochemical aspects of plant parasite relationships. Academic Press. N. Y. p.195-206.
- Palacios V. (1997). Plantas medicinales nativas del Perú. 2º ed. Lima. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONCYTEC; 1997.
- Pardi G. y Cardozo, E. (2002). Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. 40 n° 1.
- Pawer P., Park J., Roca M. y Salazar A. (2018). Diferencias en la presencia de alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima – Perú. Rev. Horiz Med. Vol. 18 (3): 25 – 29.
- Peñuelas J., Ribas M. y L. Giles (1996). Effects of allelochemicals on plant respiration and oxygen isotope fractionation by the alternative oxidase. Journal of Chemical Ecology. Vol 22: 801-805.
- Pepeljnjak S., Kosalec I., Kalodera Z. y D. Kustrak (2003). Natural antimycotics from Croatian plants. In: Rai, M., D. Mares (eds.), Plantderived antimycotics. Current trends and future prospects. Hartworth Press. N. Y. p. 49-79.
- Pérez T., Rodríguez Y., Díaz E., Domínguez A., Riverón Y. y Núñez A. (2011). Influencia de la preparación de la corteza de *Rhizophora mangle* L. en el proceso de extracción sólido-líquido. Rev Cub de Plant Med. Vol. 16 (1): 94 - 104.
- Prescott Harley y Klein. (2009). Microbiología. Séptima edición. Editorial McGraw - Hill.



- Quispe M. (2004). Tamizaje fitoquímico y actividad antidiarreica de la parte aérea del *Xanthium catarrhicum* H.B.K. "amor seco" en cobayos Ayacucho.
- Rico L., Gómez D., Ortiz R., Cano E. y Franco M. (2014). Evaluación toxicológica y farmacológica del extracto etanólico de las semillas de *Swietenia humilis* Zucc (caobilla). *Rev Mex Cienc Farm.* Vol. 45 (2): 77 – 83.
- Rivas A. y Cardona N. (2009). Antimicóticos de uso sistémico. *Rev. CES Med.* 23 (1): 61 – 76.
- Rodríguez A., León M., Hernández A. y Junco J. (1996). Actividad antifúngica *in vitro* de una crema de *Plantago major* L. *Rev. Cubana Plant Med.* 1 (3): 9 – 12.
- Rodríguez E. (2006). Manual de microbiología oral. México D.F.: McGraw Hill Interamericana ediciones.
- Rodríguez M. (2002). Gentamicina. *Rev Enf. Infect. y Micro.* 22 (1): 20 – 30.
- Rosco Diagnóstica. (2011). Susceptibility Testing of Yeasts 2011. Página web: <http://www.rosco.dk/gfx/pdf/yeasts.pdf>. Fecha de revisión: 10 setiembre del 2019.
- Ruíz J. (2013). Actividad antifúngica *in vitro* y concentración mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho plantas medicinales. Tesis de Magíster en Microbiología. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú. 89 p.
- Ruiz J. y Roque M. (2009). Actividad antimicrobiana de cuatro plantas de nor-oriente peruano. *Ciencia e Investigación.* Vol. 12 (1): 41 – 47.
- Ryan K., Ray G., Ahmad N., Drew L. y Plorde J. (2011). Microbiología Médica Sherris. México: Editorial McGrawHill Interamericana.
- Salas A. (2016). Efecto antimicótico del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en cepas de *Candida albicans*. Puno – 2015. Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 62 p.
- Salas I., García J. y Miranda K. (2000). Factores de virulencia en cepas *Candida albicans*. *Rev. Costarric. Cienc. Méd.* Vol. 21 (1).
- Saldaña J., Muro J., Zavala F., Zavaleta G., Araujo Jh. y Fajardo K. (2012). Efecto del extracto acuoso de *Syzygium aromaticum* a diferentes concentraciones sobre el ciclo celular en meristemas radiculares de *Allium cepa*. *Revista REBIOL.* Trujillo – Perú. 32 (2), 27 – 38.



- Sandner M. y Mata M. (1972). *Candida albicans* como saprofito de la Mucosa lingual. Trabajo presentado en la VIII Reunión Anual de la Sociedad Venezolana de Dermatología. Valencia – España.
- Saravia N. y Guillinta G. (2012). Actividad antifúngica del extracto de etanol *Schinus molle* y el fluconazol sobre *Candida albicans*. Revista Kiru. Vol. 9 (1): 39 – 41.
- Selitrennikoff P. (2001). Antifungal proteins. Applied and Environmental Microbiology: 2883-2894.
- Sigismund C. (1788). Científico naturista botánica se le considera el fundador de la moderna taxonomía.
- Silva J, Oliveira Junior R, Ribeiro F, Santos M, Quintans Júnior L, Almeida J et al. prospecção tecnológica de alcaloides usados no tratamento dador. Rev GEINTEC. 2015; 5 (3): 2284-2295.
- Slusarenko A., Patel A. y Portz D. (2008). Control of plant diseases by natural products: allicin from garlic as a case study. European Journal of Plant Pathology. Vol. 121: 313 – 322.
- Soto M. (2015). Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper Peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región amazonas. In Crescendo. Institucional. Vol. 6 (1): 105 – 116.
- Strasburger E., Noll E. y Schenk H. (1978). Tratado de Botánica. 7° edición: ediciones Marín Barcelona - España.
- Thompson W. (1981). Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales. 1° Edición. Barcelona: Editorial Blume; 119.
- Tizado R. (2006). Control of fungal diseases with isothiocyanates. [www.stewartp\)ostharvest.com](http://www.stewartp)ostharvest.com)
- Torrenegra M., Granados C., Durán M., León G., Yáñez X., Martínez C., et al. (2016). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. Orinoquia. Vol. 20 (1): 69 – 74.
- Torres H. (2005). Farmacología y terapéutica odontológica. Bogotá-Colombia. Editorial CELSUS.
- Valencia C. (1995). *Fundamentos de fitoquímica*. México: Editorial Trillas.
- Vega E., Tapia R., Reyes R., Guzmán S., Pérez J., y Velasco, R. (2012). Actividad antibacteriana y antifúngica de *Justicia spicigera*. Revista Latinoamericana de Quimica. Vol. 40 (2): 75–82.



- Villacreces N. (2011). Evaluación del procesamiento artesanal del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) sobre el consumo de agua, tiempo empleado y la calidad nutricional y microbiológica. Colegio de Agricultura, Alimentos y Nutrición. Vol. 33.
- Waizel J. y Martínez I. (2011). Algunas plantas usadas en México en padecimientos periodontales. Revista ADM/Marzo – Abril. Vol. LXVIII (2): 73 – 88.
- Waterman P. y Mole S. (1994). Method in Ecology. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Blackwell Sci. Publ. London. 66–103.
- Wen L., Haddad M., Fernández I., Espinoza G., Ruiz C., Neyra E., Bustamante B. y Rojas R. (2011). Actividad antifúngica de cuatro plantas usadas en la medicina tradicional peruana. Aislamiento de 3'-formil-2',4',6'-trihidroxiidrochalcona, principio activo de *Psidium acutangulum*. Rev. Soc. Quím. Perú. Vol. 77 (3): 199 – 204.
- Zapata B., Durán C., Stashenko E., Betancur L. y Mesa A. (2010). Actividad antimicótica y citotóxica de aceites esenciales de plantas de la familia Asteraceae. Rev. Iberoam. Micol. Elsevier Doyma. Vol. 272 (2): 101 – 103.

## ANEXOS



**Figura 6.** Separación de órganos vegetales de las plantas, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre del 2017.



**Figura 7.** Proceso de molido en mortero de las muestras de plantas, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre del 2017.



**Figura 8.** Conservación de muestras seca, molidas y dispuestas en bolsas ciflot, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre del 2017.



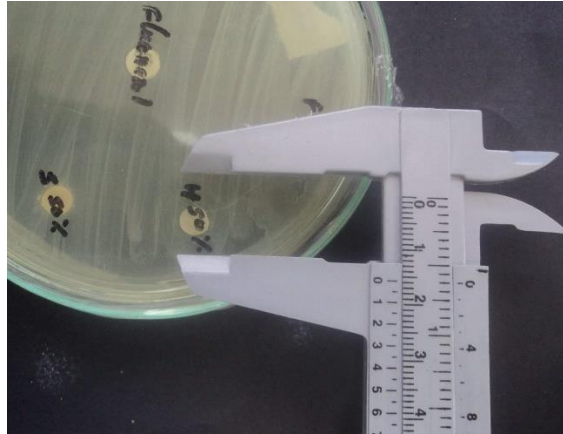
**Figura 9.** Pesado de muestras de plantas para la preparación de extractos e infusiones, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, setiembre del 2017.



**Figura 10.** Aislamiento y subcultivo de *Candida*, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre del 2017.



**Figura 11.** Obtención de decocciones e infusiones de las plantas, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre del 2017.



**Figura 12.** Medición de halos de inhibición de las decocciones e infusiones de muña y espina de perro sobre *Candida albicans*, laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre del 2017.





**Figura 13.** Constancia de ejecución de tesis en el laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCCBB – UNA Puno, noviembre del 2017.