



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



FITOQUÍMICA CUALITATIVA Y EFECTO ANTIMICÓTICO *in vitro* DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Lepechinia meyenii* Y *Calceolaria* spp SOBRE *Candida albicans*

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. YESSICA ARCAYA CANDIA

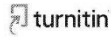
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA: MICROBIOLOGÍA Y

LABORATORIO CLÍNICO

PUNO – PERÚ

2024



YESSICA ARCAYA CANDIA

FITOQUÍMICA CUALITATIVA Y EFECTO ANTIMICÓTICO in vitro DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Lepechinia meyenii*

Universidad Nacional del Altiplano

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid::8254:417183656

103 Páginas

Fecha de entrega
18 dic 2024, 8:49 a.m. GMT-5

17,833 Palabras

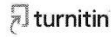
Fecha de descarga
18 dic 2024, 8:52 a.m. GMT-5

101,295 Caracteres

Nombre de archivo
TESIS YESSICA ARCAYA CANDIA REPOSITORIO 2.pdf

Tamaño de archivo
2.4 MB





18% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 17% Fuentes de Internet
- 2% Publicaciones
- 7% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

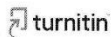
N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo. Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Digo.Mg. Diana Elizabeth Cervero Zagarra
DOCENTE
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UNA PUNO

Dicy Cristina Gonzalez Alcos
DIRECTORA
Unidad de Investigación
FCOBB - UNA





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

FITOQUÍMICA CUALITATIVA Y EFECTO ANTIMICÓTICO *in vitro* DE
EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Lepechinia meyenii* Y *Calceolaria* spp SOBRE
Candida albicans

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. YESSICA ARCAJA CANDIA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADA POR:

PRESIDENTE:


Mg. JUAN PABLO HUARACHI VALENCIA

PRIMER MIEMBRO:


Dr. LUIS ANGEL PAUCAR FLORES

SEGUNDO MIEMBRO:


M.Sc. NADDY VALENTINE JORDAN ROMERO

DIRECTOR / ASESOR:


Mg. DIANA ELIZABETH CAVERO ZEGARRA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 20/12/2024

ÁREA: Ciencias Biomédicas

SUBLINEA: Diagnóstico y Epidemiología




V^oB^o Dra. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN-FCCBB



DEDICATORIA

A Dios por haberme acompañado en todos los momentos de mi vida, por haberme alentado en todo momento diciéndome: No temas porque yo estoy contigo, esfuérgate y sé valiente.

Dedico este trabajo en especial a mi madre; MARCELINA CANDIA CHAMBILLA, que se siente muy feliz por mis logros y a mi padre ROGELIO ARCAYA CHOQUEJAHUA por haberme inculcado seguir a Dios y no apartarme de él.

A toda mi familia, mis hermanos KELLY, EDU y GABRIELA; también tengo un especial agradecimiento para dos personas muy importantes en mi vida, mis queridas amigas MELISSA y EVELYN por todo su apoyo incondicional en todo este tiempo, con sus palabras de aliento que me motivaban a seguir adelante, a la Dra. DIANA ELIZABETH CAVERO ZEGARRA, quien me brindó su tiempo, apoyo y conocimiento en este trabajo.

Yessica Arcaya Candia



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, por haberme brindado la oportunidad de forjar mi futuro, en especial a la carrera profesional de Biología y a todos los docentes por sus conocimientos impartidos durante mi formación profesional.

Expreso mi agradecimiento al Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas – Puno por haberme permitido realizar mi trabajo de investigación, ya que logre incrementar más mis conocimientos, de igual manera a las personas que contribuyeron de una u otra forma a la realización de mi tesis.

Yessica Arcaya Candia.



ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
ACRÓNIMOS	
RESUMEN	15
ABSTRACT	16
CAPITULO I	
INTRODUCCIÓN	
1.1. OBJETIVO GENERAL	18
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	18
CAPÍTULO II	
REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1. ANTECEDENTES	20
2.2. MARCO TEÓRICO:	23
2.2.1. <i>Candida albicans</i>	23
2.2.2. Plantas medicinales	26
2.2.3. <i>Calceolaria spp</i>	27
2.2.4. <i>Lepechinia meyenii</i>	30



2.2.4	Metabolitos secundarios.....	32
2.2.5	Extractos etanólicos	35
2.2.6	Medios de cultivo	37
2.2.7	Actividad antifúngica	38

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	ÁREA DE ESTUDIO.....	40
3.2	TIPO DE ESTUDIO	40
3.3	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	41
3.4	METODOLOGIA	42
3.4.1	Determinación de la composición fitoquímica cualitativa (alcaloides, flavonoides, fenoles y taninos) del extracto etanólico de <i>Lepechinia meyenii</i> y <i>Calceolaria spp</i>	42
3.4.2	Determinación de la concentración mínima fungistatica (CMI) y fungicida (CMF) de extractos etanólicos de <i>Lepechinia meyenii</i> (Walp) Epling y <i>Calceolaria spp</i> en concentraciones de 5, 10, 20, 40, 80 y 100% sobre <i>Candida albicans</i>	51

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA PRELIMINAR DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE <i>Lepechinia meyenii</i> Y <i>Calceolaria spp</i>	58
4.2.	Concentración mínima inhibitoria (CMI) y fungicida (CMF) de extractos etanólicos de <i>Lepechinia meyenii</i> (Walp) Epling y <i>Calceolaria spp</i> en	



concentraciones de 5%, 10%, 20%, 40%, 80% y 100% sobre <i>Candida albicans</i>	61
V. CONCLUSIONES	72
VI. RECOMENDACIONES	73
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS	86

ÁREA: Ciencias Biomédicas

SUBLÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Diagnóstico y Epidemiología

FECHA DE SUSTENTACION: 20 de diciembre del 2024



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1	Distribución de los participantes del estudio..... 41
Tabla 2	Distribución de tamizajes fitoquímicos y determinación de CMI y CMF de los extractos etanólicos de las plantas medicinales salvia y zapatilla. 42
Tabla 3	Rango colorimétrico de valoración cualitativa de metabolitos secundarios. 46
Tabla 4	Rango colorimétrico de valoración cualitativa de metabolitos secundarios. 48
Tabla 5	Rango colorimétrico de valoración cualitativa de metabolitos secundarios. 49
Tabla 6	Rango colorimétrico de valoración cualitativa de metabolitos secundarios. 50
Tabla 7	Análisis fitoquímico cualitativo de <i>Lepechinia meyenii</i> 58
Tabla 8	Análisis fitoquímico cualitativo de <i>Calceolaria</i> spp. 59
Tabla 9	Análisis descriptivo respecto al efecto antimicótico de CMI y CMF in vitro de extractos etanólicos de <i>Lepechinia meyenii</i> sobre <i>Candida albicans</i> 62
Tabla 10	Análisis descriptivo respecto al efecto antimicótico de CMI y CMF in vitro de extractos etanólicos de <i>Lepechinia meyenii</i> sobre <i>Candida albicans</i> 63
Tabla 11	Prueba de hipótesis respecto al efecto antimicótico de CMF in vitro de extractos etanólicos de <i>Lepechinia meyenii</i> sobre <i>Candida albicans</i> 65
Tabla 12	Análisis descriptivo respecto al efecto antimicótico de CMI y CMF in vitro de extractos etanólicos de <i>Calceolaria</i> spp sobre <i>Candida albicans</i> 67



Tabla 13	Prueba de hipótesis respecto al efecto antimicótico de CMI in vitro de extractos etanólicos de Calceolaria spp sobre Candida albicans.....	68
Tabla 14	Prueba de hipótesis respecto al efecto antimicótico de CMF in vitro de extractos etanólicos de Calceolaria spp sobre Candida albicans.....	69



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Muestras herbarias adquiridas en puestos de venta de la ciudad de Juliaca	86
Figura 2 Preparación de Extractos Etanólicos de Salvia (<i>Lepechinia meyenii</i>).....	86
Figura 3 Preparación de Extractos Etanólicos de Amaysapato (<i>Calceolaria spp</i>)...	87
Figura 4 Preparación de Cultivos de <i>Candida albicans</i>	87
Figura 5 Preparación de reactivos para análisis fitoquímico: Reactivo de Dragendorff	88
Figura 6 Preparación de reactivos para análisis fitoquímico; Solución Wagner.	88
Figura 7 Preparación de reactivos para análisis fitoquímico; Solución FeCl ₃ 5%...	88
Figura 8 Preparación de reactivos para análisis fitoquímico; Solución de gelatina cloruro al 5%.	89
Figura 9 Resultados del análisis Fitoquímico de Salvia (<i>Lepechinia meyenii</i>).	89
Figura 10 Resultados del análisis fitoquímico de Amayzapato (<i>Calceolaria spp</i>).....	89
Figura 11 Resultados de CMI de Salvia (<i>Lepechinia meyenii</i>).....	90
Figura 12 Resultados de CMI de Amaysapato (<i>Calceolaria spp</i>)	90
Figura 13 Resultados de CMF de Salvia (<i>Lepechinia Meyenii</i>) frente a <i>Candida albicans</i>	90
Figura 14 Resultados de CMF de Amayzapato (<i>Calceolaria spp</i>) frente a <i>Candida albicans</i>	91



ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. Galería Fotográfica	86
ANEXO 2. Constancia del análisis de laboratorio	92
ANEXO 3. Base de datos	93
ANEXO 4. Resultados del medio del conteo de UFC.....	96
ANEXO 5. Pruebas de normalidad	99



ACRÓNIMOS

et al.	: Y demás colaboradores
msnm	: Metros sobre el nivel del mar
mm	: Miligramos por milímetro
CMI	: Concentración mínima inhibitoria
CMF	: Concentración mínima fungicida
%	: Porcentaje etanólico



RESUMEN

Esta investigación se realizó con el objetivo de evaluar la fitoquímica cualitativa y el efecto antimicótico *in vitro* de extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* (salvia) y *Calceolaria* spp (zapatilla) sobre *Candida albicans*, la metodología empleada tiene enfoque cuantitativo, de diseño experimental puro, la población y muestra estuvo conformada por 400 unidades experimentales por cada especie vegetal (10 cepas de *Candida albicans*, 8 tratamientos y 5 repeticiones), cuyos datos se utilizaron para determinar la concentración mínima fungistática (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) de extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling y *Calceolaria* spp, en concentraciones de 5%, 10%, 20%, 40%, 80% y 100% sobre *Candida albicans*. El análisis estadístico empleado fue la prueba T de Student de una prueba. En la fitoquímica cualitativa los metabolitos secundarios evaluados fueron: alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos, donde *Lepechinia meyenii* presento fenoles muy abundantes, alcaloides abundantes, flavonoides y taninos leves; y en *Calceolaria* spp presentó fenoles muy abundantes, flavonoides abundantes, alcaloides y taninos leves; los extractos etanólicos de la especie *Lepechinia meyenii* tuvo una CMF (40%) y CMI (10%) sobre *Candida albicans* mientras que en la especie *Calceolaria* spp tuvo una CMI (10%), CMF (40%), en conclusión los extractos etanólicos de la especie *Lepechinia meyenii* y en *Calceolaria* spp tienen efectos antimicóticos sobre *Candida albicans*.

Palabras clave: Actividad antifúngica, Concentración mínima inhibitoria, Extractos etanólicos, Fitoquímica, Plantas medicinales.



ABSTRACT

This research was carried out with the objective of evaluating the qualitative phytochemistry and the *in vitro* antifungal effect of ethanolic extracts of *Lepechinia meyenii* (sage) and *Calceolaria* spp (slipper) on *Candida albicans*, the methodology used has a quantitative approach, a pure experimental design, the population and sample consisted of 400 experimental units for each plant species (10 strains of *Candida albicans*, 8 treatments and 5 repetitions), whose data were used to determine the minimum fungistatic concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of ethanolic extracts of *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling and *Calceolaria* spp, in concentrations of 5%, 10%, 20%, 40%, 80% and 100% on *Candida albicans*. The statistical analysis used was the one-test Student's T test. In qualitative phytochemistry, the secondary metabolites evaluated were: alkaloids, phenols, flavonoids and tannins, where *Lepechinia meyenii* presented very abundant phenolics, abundant alkaloids, flavonoids and slight tannins; and in *Calceolaria* spp it presented very abundant phenols, abundant flavonoids, alkaloids and light tannins; The ethanolic extracts of the species *Lepechinia meyenii* had a CMF (40%) and MIC (10%) over *Candida albicans* while in the species *Calceolaria* spp it had a MIC (10%), CMF (40%), in conclusion the ethanolic extracts of the species *Lepechinia meyenii* and *Calceolaria* spp have antifungal effects on *Candida albicans*.

Keywords: Antifungal activity, Minimum inhibitory concentration, Ethanolic extracts, Phytochemistry, Medicinal plants.



CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

La candidiasis es una enfermedad fúngica emergente en los últimos 10 años (MINSA, 2017), que viene incrementándose debido al uso irracional de antifúngicos, aunado al aumento de la población inmunodeprimida ha provocado un incremento en el número de aislamientos de levaduras patógenas del género *Candida* que son resistentes a diversos antifúngicos llegando a convertirse en uno de los problemas de mayor importancia en la salud pública (Centers for disease Control and Prevention, 2017).

Los azoles son el grupo de antifúngicos del que se cuenta con mayor referencia a la persistencia de mecanismos de resistencia y de aislamientos de *Candida* resistentes, debido a su exagerado uso, facilitando la aparición y posterior diseminación en la resistencia de estos microorganismos. El principal mecanismo involucrado y reportado con mayor frecuencia es la sobreproducción de bombas ABC y MF gracias a la sobreexpresión de los genes CDR (1 y 2) y MDR1, respectivamente. Por otro lado, también están incluidas muchas mutaciones en los genes ERG11 y su sobreexpresión de dicha mutación. (Bilbao, 2018).

En la región Puno no se cuenta con registro de casuística de casos de candidiasis, ni mucho menos reportes en trabajos de investigación publicados, pero la presencia de casos de la infección fúngica si se presentan en los establecimientos de salud estatal y privados, donde los médicos recetan antifúngicos que muchas veces no son eficientes en el tratamiento de éstas enfermedades, razón por la cual mucha gente recurre a la medicina tradicional, por tales motivos la presente propuesta de investigación plantea la evaluación



de los extractos etanólicos de las plantas medicinales salvia y zapatilla que puedan poseer efectos antifúngicos en su actividad fungistática mediante el cálculo de la CMI y efecto fungicida mediante la CMF.

Las infecciones fúngicas tuvieron un incremento en la frecuencia e importancia en los últimos años, éstas vienen continuadas de una alta mortalidad, ya que origina infecciones en el torrente sanguíneo, donde el género *Candida* posee una casuística entre el 20% a 50% de los casos y la mortalidad por estas infecciones puede llegar a más del 90% (Bassetti et al., (2014).

En tal sentido la investigación se justifica en razón que se determinó si algunas de las concentraciones de los extractos etanólicos de la salvia y/o zapatilla, ostentan una actividad antimicótica en el crecimiento *in vitro* de *C. albicans*, para que sea considerado como parte de la medicina complementaria, debido a su bajo costo y abundancia en el altiplano peruano, pero quedando pendiente la realización de estudios más minuciosos de sus compuestos fitoquímicos en posteriores investigaciones, radicando ahí lo valioso de realizar este tipo de investigaciones.

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la fitoquímica cualitativa y el efecto antimicótico *in vitro* de extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* y *Calceolaria* spp sobre *Candida albicans*

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar la fitoquímica cualitativa de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling y *Calceolaria* spp.



- Determinar la concentración mínima fungistática (CMI) y mínima fungicida (CMF) de extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling y *Calceolaria* spp en concentraciones de 5%, 10%, 20%, 40%, 80% y 100% sobre *Candida albicans*.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Condorhuaman et al. (2014) al evaluar el efecto del extracto etanólico de *Calceolaria myriophylla* “zapatilla”, el análisis fitoquímico cualitativo arrojó que la planta posee abundante cantidad de flavonoides y compuestos fenólicos. Mostajo et al. (2021) al preparar un extracto acuoso al 5% de la parte aérea de la planta (tallo, hojas y flores) de *Calceolaria scapiflora* y de pepa de *Persea americana* var. Fuerte el tamizaje fitoquímico de ambos extractos arrojó la presencia de lactonas sesquiterpénicas, compuestos fenólicos, triterpenos y flavonoides.

Geraldi et al (2022), en su investigación obtuvo resultados de actividad antifúngica de extractos metanólicos de 11 plantas medicinales tropicales de Indonesia contra *Candida albicans* ATCC 10231. Entre ellos, los extractos metanólicos de *C. citratus*, *C. xanthorrhiza*, *C. aeruginosa* y *Z. officinale* var. rubrum tenía el valor más bajo de MIC ()y MFC, mientras que, en concentraciones relativamente bajas, *Z. officinale* var. rubrum y *C. longa* mostraron actividad antifúngica comparable a la nistatina.

Alves et al. (2021) el análisis se realizó con base en la mediana, cuartiles (25% y 75%), valores máximos y mínimos de cuatro grupos: todas las cepas, cepas ATCC, cepas de *C. albicans* y cepas de *C. albicans* ATCC. Se propusieron los siguientes puntos de corte para definir las categorías: CMI < 3.515 $\mu\text{g/mL}$ (bioactividad muy fuerte); 3.516-25 $\mu\text{g/mL}$ (bioactividad fuerte); 26-100 $\mu\text{g/mL}$ (bioactividad moderada); 101-500 $\mu\text{g/mL}$ (bioactividad débil); 500-2000 $\mu\text{g/mL}$ (bioactividad muy débil); y >2000 $\mu\text{g/mL}$ (sin



bioactividad). Conclusiones: Se propone un esquema de clasificación de la potencia antifúngica de los compuestos frente a las especies de *Candida* que puede ser utilizado para identificar el potencial antifúngico de nuevos candidatos a fármacos

Muthular et al. (2019) demostró que los efectos *in vitro* del medicamento antitumoral dietilestilbestrol mostró una inhibición en el crecimiento de *Candida albicans*, tanto en cepas sensibles como resistentes al fluconazol. Los resultados se ajustan de manera adecuada a las curvas teóricas saturables que representan la relación entre la concentración del inhibidor y la respuesta. Las concentraciones inhibitorias mínimas observadas fueron las siguientes: para medicamento antitumoral dietilestilbestrol y fluconazol, 28.18 µg/ml y 4,90 µg/ml (ATCC).

A nivel nacional, Enciso (2015) determinó los constituyentes químicos del extracto hidroalcohólico de flores *Calceolaria rhaccodes* Krazl, calceolaria o zapatito de venus, zapatilla, capachito, zapatito de la virgen, calceolaria, reportando que la maceración hidroalcohólica presentó flavonoides, alcaloides, taninos, quinonas, carbohidratos y azúcares reductores.

Torres (2014) evaluó la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de *Luma chequen* (molina) y determinó que la CMI del extracto frente a *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis* fue de 1.56 mg/ml y el tamizaje fitoquímico de la planta arrojó la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, triterpenos y/o esteroides, alcaloides y leucoantocianidinas.

Zapata (2017) evaluó la actividad antifúngica del extracto hidro – alcohólico de *Cestrum hediondinum* “hierba santa”, donde determinó valores de CMI sobre *Candida albicans* y *Microsporium sp* equivalente a 12.5 mg/ml y la concentración mínima



fungicida (CMF) para *Candida albicans* fue 25 mg/ml y para *Microsporium* sp de 25 mg/ml y la sensibilidad mediante el método de difusión en agar (Kirby-Bauer) *Microsporium* sp presentó una mayor sensibilidad con un halo de 40 mm de diámetro, seguido de *Candida albicans* formando un halo 25 mm.

Mestanza & Vásquez (2018) obtuvieron que las cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina fueron susceptibles al extracto acuoso de *Allium sativum* L (ajo), observándose que a mayor concentración mayor fue la susceptibilidad y la CMI del extracto de ajo sobre *C. albicans* fue 25 ul/ml originando susceptibilidad de todas las cepas estudiadas.

Ñontol & Portal (2020) con el objetivo de determinar la actividad antimicótica in vitro de extractos hidroalcohólicos de flores de tres colores (rojo, amarillo y anaranjado) de la especie *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” sobre *Candida albicans*, concluyeron que el extracto hidroalcohólico de la flor roja del mastuerzo a una concentración del 40% inhibió el crecimiento de *C. albicans*, llegando a formar halos de inhibición de promedio de 25 mm.

A nivel regional, Flores (2024) se evaluó la susceptibilidad bacteriana utilizando la técnica de Kirby-Bauer, y los datos fueron analizados mediante regresión y correlación lineal, así como análisis de varianza (Fisher y Kruskal-Wallis), complementados con pruebas de comparaciones múltiples de T Student y Dunn, tras verificar los supuestos con un $\alpha=0.05$. El análisis de la composición fitoquímica del aceite esencial (AE) mostró una presencia leve de alcaloides (+) y fenoles (+). En cambio, en el extracto etanólico (EE) se identificó una cantidad significativa de fenoles (+++), seguidos de taninos (++) y alcaloides (+). En lo que respecta a las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)



presenta asociación significativa ($r=-0,92$), mientras que las concentraciones mínimas bactericidas (CMB) que presenta alta asociación ($r=-0.93$).

Quispe (2020) obtuvo que la CMI del extracto etanólico de cúrcuma sobre *Candida albicans* fue del 35%, con halos de inhibición promedio de 20.33 mm y su efecto fungicida con una concentración del 78.01%, con halos promedio de 26.06 mm con fluconazol; el extracto al 100% origina un promedio de 25.19 mm de inhibición.

Machaca (2024) los resultados del extracto etanólico de *Artemisia absinthium* indican que la concentración del 100% mostró la mayor inhibición, alcanzando 19.68 mm, seguida por las concentraciones del 80% (16.72 mm), 60% (13.61 mm), 40% (10.60 mm), 20% (8.23 mm) y 10% (6.66 mm) ($P=0.0001$). En contraste, el aceite esencial de *Artemisia absinthium* presentó una inhibición de 8.62 mm al 10%, 11.19 mm al 20%, 14.22 mm al 40%, 17.45 mm al 60%, 20.32 mm al 80% y 23.25 mm al 100% ($P=0.0001$). Se concluye que la inhibición con el extracto etanólico al 100% fue de 19.68 mm, lo que equivale a un 78.95% de inhibición según Duraffourd, mientras que con el aceite esencial se logró una inhibición de 23.25 mm (84.21% de sensibilidad Duraffourd), teniendo como control la ceftriaxona, que mostró una inhibición de 25.86 mm.

2.2. MARCO TEÓRICO:

2.2.1. *Candida albicans*

a. Descripción

La candidiasis es la infección fúngica invasiva más común siendo *Candida albicans* el principal agente etiológico, con un alto índice de mortalidad y suele



encontrarse en pacientes inmunosuprimidos o con otras condiciones subyacentes que los predisponen. Las levaduras de *C. albicans* pueden cursar como patógeno primario tiene capacidad para exhibir cambios bioquímicos y morfológicos al contacto con personas que tienen defectos en su sistema inmune y producir así la enfermedad (Mantilla et al, 2021). Se han descrito varios mecanismos por los cuales las bacterias favorecen o disminuyen el riesgo de adquirir la infección por *C. albicans*. Estudios en modelos murinos muestran que la colonización de la vía urinaria por *Escherichia coli* favorece la adhesión de *C. albicans* al epitelio y de forma contraria, la presencia de *C. albicans* en la vía respiratoria aumenta el riesgo de neumonía asociada a ventilador por *Pseudomonas aeruginosa*. Dentro de los factores más aceptados se encuentran: la producción de proteasas y fosfolipasas que degradan queratina y colágeno para facilitar la invasión tisular; la conversión de levadura a hifa, ya que esta última es más resistente a la fagocitosis y contiene un mayor número de enzimas proteolíticas; y la expresión de moléculas inmunoregulatoras que contribuyen a disminuir la actividad de las defensas del huésped (Mantilla et al, 2021). Los antimicóticos pueden eliminar las infecciones por candida en la mayoría de las personas. Sin embargo, si tiene un sistema inmunitario debilitado, el tratamiento puede ser más difícil (Alves et al., 2021).

b. Epidemiología

En el año 2022, la Organización Mundial de la Salud (OMS) dio a conocer una lista de 19 hongos prioritarios. Esta clasificación es fundamental para fomentar la investigación sobre especies de gran relevancia clínica, como *Candida albicans*., que se menciona en esta lista como un problema significativo de salud



pública a nivel mundial. Las infecciones por *Candida* son frecuentes en entornos hospitalarios, con tasas de candidemia que fluctúan entre el 4% y el 15% de los hemocultivos positivos. La mortalidad relacionada con estas infecciones puede ser considerable, variando entre el 35% y el 75%, dependiendo del estado del paciente y otros factores. En tiempos recientes, se ha registrado un incremento en la incidencia de especies distintas a *Candida albicans* las cuales ahora constituyen aproximadamente el 50% de los aislados en hemocultivos (Alves et al., 2021).

c. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *Candida albicans* por Dadar et al., (2018); Wall et al., (2019); Kadosh, (2019).

Reino: Fungi.

Filo: Ascomycota.

Subfilo: Saccharomycotina.

Clase: Saccharomycetes.

Orden: Saccharomycetales.

Familia: Saccharomycetaceae.

Género: *Candida*.

Especie: *Candida albicans*.



d. Diagnostico

El laboratorio de micología identifica levaduras que tienen significancia clínica, para lo cual se dispone de múltiples sistemas bioquímicos rápidos; y también se deben seguir realizando sencillas pruebas que son útiles en la identificación tales como: observar la micromorfología, producción de pigmento, asimilación de carbohidratos, producción de ureasa, susceptibilidad a la cicloheximida, desarrollo de película, desarrollo a 37 y 42 °C. La diferenciación de *Candida albicans* de otras *Candidas* se da mediante la prueba fisiológica del tubo germinativo (INS, 2007).

e. Tratamiento

El tratamiento de las infecciones por *Candida albicans* implica el uso de antifúngicos como azoles (fluconazol), polienos (anfotericina B) y equinocandinas. Sin embargo, se han documentado cepas resistentes al fluconazol, lo que complica su manejo clínico. La resistencia a los antifúngicos es un desafío creciente en el tratamiento de las infecciones por *Candida albicans*, lo que resalta la necesidad de estrategias de tratamiento adecuadas y la vigilancia continua de la susceptibilidad a los medicamentos (Alves et al., 2021).

2.2.2. Plantas medicinales

El uso de las plantas medicinales a través de la medicina tradicional es ancestral, se usan diferentes partes de la planta según el malestar o dolencia del afectado, lo común es usar hojas y flores y ocasionalmente el tallo y raíz, estas

plantas pueden ser consumidas directamente o mediante infusiones. (Guzmán et al. 2017)

2.2.3. *Calceolaria spp*

a. Descripción botánica

Calceolaria spp, también conocida como capachito, zapatitos de Venus, Topa-topa o Zapatitos de la Virgen, Amaysapato, zapatilla es un género de fanerógamas en la familia *Calceolariaceae*. Este grupo de plantas herbáceas es originario del sur del continente americano y cuenta con aproximadamente 250 especies aceptadas y numerosos cultivares comerciales que se ofertan en viveros de todo el mundo (Leiva *et al.*, 2018).

Algunas características generales de las Calceolarias incluyen:

- Flores amarillas o anaranjadas: Las flores de estas plantas comúnmente son de estos colores y pueden presentar manchas rojas o púrpuras, existiendo variaciones dependiendo de la zona y el medio ambiente.
- Descripción de las hojas: Las hojas son simples, opuestas y decusadas o ternadas, rara vez alternas.
- Inflorescencia: La inflorescencia suele estar en cimas, y en algunas especies, las flores son solitarias.
- Característica distintiva: El labio inferior de la corola tiene forma de saco (sacciforme) y es más grande que el labio superior. Además, presenta una



zona de tricomas glandulares secretores de aceites conocida como elaióforo.

- **Fruto:** El fruto es una cápsula pluriseminada que se deshace distalmente en 4 valvas.
- **Semillas:** Las semillas son pequeñas, casi lineares, elipsoides y algo recurvadas, con una testa ornamentada y costillas longitudinales (Leiva et al., 2018).
- **Arbusto o sub – arbusto erecto:** Las hojas son ternadas y subcoriáceas, simples, elípticas; con márgenes dentados. Las flores en cimas multifloras. Corola amarilla; elaióforo presente Anteras amarillas, de 2,2–2,8 mm de longitud., tecas divaricadas. (Leiva et al., 2018)

La identificación de la esta especie se extrajo del texto Sistema de fanerógamas del autor Condori y Vilca (2005) y Plantas medicinales de los andes y la amazonia del autor Bussmann y Sharon (2015).

El género *Calceolaria* spp contiene una amplia gama de compuestos químicos, incluidos diterpenos, flavonoides, fenilpropanoides, iridoides y ácidos fenólicos. Algunas especies de *Calceolaria* exhiben propiedades insecticidas y antimicrobianas, con compuestos como la isorhamnetina, la dunniona y la quercetina que muestran una potente actividad bactericida y fungicida. Los glucósidos feniletanoides, particularmente el verbascósido, han demostrado potencial como inhibidores multiobjetivo para el desarrollo de plaguicidas, mostrando afinidad por la acetilcolinesterasa, la profenoloxidasa y el receptor de ecdisona en silico. (Garbarino et al., 2000).



b. Hábitat y distribución

La diversidad de especies del género *Calceolaria* L. del distrito Salpo, provincia Otuzco, región La Libertad y una nueva especie del norte de Perú. Se reportan 15 especies que crecen en esta área geográfica, y que, además, 7 son endémicas para los Andes occidentales de Perú. La Calceolarias también se encuentra en algunas zonas de Uruguay, Brasil, Argentina, (Leiva et al., 2018)

c. Clasificación taxonómica

Reino:	Plantae
Phylum o división:	Tracheophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Lamiales
Familia:	Scrophulariaceae
Género:	<i>Calceolaria</i>
Especie:	<i>Calceolaria</i> spp
Nombre común:	Zapatito o amaysapato. (IBUNAM, 2019)

d. Usos

La *Calceolaria* fue ampliamente utilizada por los aborígenes americanos como febrífugo, así como diurético. También ha sido empleada como antiinflamatorio para dolencias musculares y reumáticas, para calmar dolores de



cabeza y para ayudar a cicatrizar heridas. Los mapuches, y otros pueblos originarios del continente y los campesinos, desde EE.UU. hasta América del Sur, también la ocuparon para espantar piojos. (Leiva et al., 2018)

2.2.4. *Lepechinia meyenii*

a. Descripción botánica

Lepechinia meyenii, también conocida como Pachasalvia o directamente salvia, es una hierba perenne perteneciente a la familia *Lamiaceae*. Se encuentra en los Andes en los países de Argentina, Bolivia y Perú, en altitudes que varían alrededor de los 1500 y 4500 m.s.n.sm (Castillo, 2004).

Contiene una amplia gama de fitoquímicos, incluidos los ácidos salvianólicos y los diterpenoides fenólicos. El aceite esencial de la planta es rico en monoterpenos y sesquiterpenos oxigenados. Se han identificado varios compuestos con actividades antioxidantes e inhibidoras de la aldosa reductasa, siendo el ácido rosmarínico el más abundante y activo. Los extractos de *L. meyenii* han mostrado efectos antibacterianos significativos contra varios patógenos, incluido el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM). El aislamiento bioguiado condujo a la identificación del ácido carnósico, el carnosol y el ácido 12-metoxicarnósico como los principales compuestos antibacterianos. El análisis estructura-actividad reveló que el grupo 12-OH es crucial para la actividad, mientras que la metilación en C-20 la potencia aún más. Estos hallazgos respaldan el uso tradicional de *L. meyenii* como medicina herbal antidiabética y antibacteriana (Serrano et al., 2021).



Lepechinia meyenii tiene tallos subterráneos y hojas opuestas con peciolos alados. Sus flores son de colores intensos y crecen en inflorescencias. Es una planta terrestre que se desarrolla en terrenos secos y laderas (Castillo, 2004).

La identificación de la esta especie se extrajo del texto Sistema de fanerógamas del autor Condori y Vilca (2005) y Plantas medicinales de los andes y la amazonia del autor Bussmann y Sharon (2015).

b. Clasificación taxonómica (Barnechea, 2020)

Division:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Lamiales
Familia:	Lamiaceae
Género:	<i>Lepechinia</i>
Especie:	<i>Lepechinia meyenii</i> (Walp)
Nombre Común:	Salvia

c. Importancia cultural y medicinal

En Perú, se considera una planta medicinal y se utiliza tradicionalmente de las siguientes formas: Bronquitis, corazón, nervios y memoria (vía oral: Se prepara una infusión con la planta entera y se toma con las comidas, vía tópica: Heridas y pérdida de cabello). Además, se ha identificado que *Lepechinia meyenii*



contiene compuestos con propiedades antioxidantes, antibacterianas, antiinflamatorias e inhibidoras de la enzima aldosa reductasa (Castillo, 2004).

2.2.4 Metabolitos secundarios

a. Alcaloides

Son compuestos nitrogenados heterocíclicos solubles en agua, sintetizados a partir de aminoácidos (fenilalanina, ornitina, triptófano, lisina y ácido antranílico), mediante interacciones químicas (Zamora et al., 2008). Los alcaloides pueden clasificarse según su estructura final en alcaloides verdaderos, pseudoalcaloides y protoalcaloides (Abukakar et al., 2011). Los alcaloides tienen una amplia gama de actividades biológicas, se encuentran en los tejidos periféricos de las semillas, frutos, hojas, raíces y corteza, su mecanismo de acción parece ser mediante intercalación entre la pared celular y el DNA del microorganismo (Villacís, 2009), el efecto antimicrobiano de los alcaloides puede estar relacionado con la capacidad que presentan para inhibir la biosíntesis de ácidos nucleicos (Kazanjan & Fariñas, 2006)

b. Fenoles

Son moléculas básicas, compuestos por uno o más grupos hidroxilo unido a un anillo aromático (importante en las propiedades antioxidantes) actúan como fitoalexinas (defensa ante ataques bacterianos y fúngicos) y dan pigmentación a ciertas partes de las plantas, cuando se oxidan dan lugar a las quinonas que en muchas ocasiones es indeseable (Peñarrieta et al, 2014). Se clasifican en 2 grupos: No flavonoides (Fenoles no carboxílicos, Ácidos fenoles) y Flavonoides (antocianos, flaconas, flavo nonas, flavonoles, flavanonoles, taninos condensados



y lignanos). Por sus propiedades antioxidantes tienen implicaciones en la salud humana en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cancerígenas o incluso en enfermedades neurodegenerativas (Gimeno, 2004).

c. Flavonoides

Grupo de compuestos que tienen una 2-fenil cromona como núcleo principal básico y se dividen en diversas clases, tales como flavonas, flavonoles, flavanonas y biflavonas (Lu et al., 2016). Estos compuestos tienen una gran variedad de efectos terapéuticos, entre estos destacan su actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana, anticancerígena, capacidad de eliminación de radicales libres, y otras propiedades medicinales (Karak, 2018). Tiene una estructura química única que consta de dos anillos aromáticos unidos por un triple enlace de carbono; en este grupo, los autores identificaron cuatro flavonoides relacionados con la ecología vegetal: el primero incluye a las antocianinas, que se encuentran relacionadas con los pigmentos de las plantas y están involucradas en las interacciones de polinización de las plantas, otros incluyen a las flavonas y flavonoles, que bloquean los rayos UV. Pueden absorber las longitudes de onda de luz más cortas que el insecto percibe como una señal para atraer y seguir el proceso de polinización. Peralta et al. (2013) en cuanto a su uso en medicina tradicional enfatiza las propiedades de los flavonoides como antibacteriano, estrogénico, antioxidante, antiinflamatorio y otros; Martínez et al. (2002) demostraron los efectos antioxidantes de los flavonoides y su importancia nutricional.



d. Taninos

El tanino es una sustancia no nitrogenada con estructura polifenólica, solubles en etanol, agua como acetona, presenta poca solubilidad al éter, asimismo esta sustancia tiene un sabor astringente y posee la capacidad de curtir la piel, y se fija en su proteína (diferente del curtiente de cromo donde se usa aluminio y cromo), por lo que es imputrescible e impenetrable. Los taninos, dan por hidrólisis total una molécula de hidrato de carbono y un número más o menos grande de moléculas de ácido gálico, son compuestos altamente oxigenados y/o presentan azúcares en su composición química, dando una característica hidrofílica (Marcano y Hasegawa, 2018). Presenta las siguientes clasificaciones:

- Taninos hidrolizables: Taninos que producen ácido gálico y azúcares simples como productos cuando se tratan con ácidos o enzimas. Estos compuestos están asociados con propiedades antioxidantes. (Costa et al., 2019).
- Taninos condensados: Son un grupo muy diverso de los polifenoles. Los taninos condensados son los más estudiados por su actividad antioxidante, pero también que poseen actividad antibacteriana, bacteriostática y anticarcinogénica (Vázquez et al., 2012). Los taninos poseen propiedades vasoconstrictoras, anticancerígenas, antidiarreicas, antibacterianas, antioxidantes (Bruneton, 2001).
- Galotaninos: compuestos complejos que en el núcleo llevan azúcar esterificados con ácido gálico y sus derivados. Tienen actividad



antioxidante y antibacteriana, también tienen potencial para ser aditivos en alimentos (Peñarrieta, 2014).

- Elagitaninos: comprende de un núcleo de poliol y estrés del ácido hexahidroxidifénico, este se reordena para formar la unidad de ácido elágico. Se ha demostrado que este tiene actividad antibacteriana y está asociada a la hepatotoxicidad en roedores y rumiantes (Peñarrieta, 2014).

Durante varias décadas los seres humanos han usado las plantas medicinales para poder tratar diferentes enfermedades, debido al su gran contenido de alcaloides, polifenoles, taninos, carotenos y terpenos; actualmente, el avance de la ciencia nos ha permitido tratar las enfermedades con medicamentos para las afecciones de diferente origen en el cuerpo humano, que actúan directamente sobre los agentes etiológicos. El uso de estas favorece a la población que no puede recurrir a los centros de tratamiento lo cual hace que las posibilidades de curarse disminuyan (Balarezo, 2018).

El uso de medicamentos como el fluconazol para el tratamiento de micosis, es de aplicación generalizada, por su disposición en el mercado, lo cual ha generado la resistencia antifúngica lo que dificulta que el manejo de las mismas sea difícil (Tapia, 2012; López et al, 2007)

2.2.5 Extractos etanólicos

Para analizar las propiedades medicinales de una planta, se recurre a métodos de extracción, entre los cuales tenemos a los extractos etanólicos, con aroma peculiar, que se obtiene a partir de una materia prima desecada de un



derivado vegetal, se da por percolación o por maceración teniendo contacto con el etanol, después del desecho de cierto solvente por medio de un contacto físico (Verde, 2016). Los métodos extractivos más empelados son:

a. Extracción por Maceración:

Es una forma de extracción sólido – líquido a temperatura ambiente. Consta de humedecer material botánico triturado y en contacto con un solvente (etanol), que penetrará y disolverá fragmentos solubles (González, 2004). Para realizar este procedimiento se coloca el material vegetal triturado en contenedores pequeños añadiendo el solvente metanol en reposo a temperatura ambiente (Verde, 2016).

b. Extracción por lixiviación:

Este método se produce por desplazamiento de sustancias solubles, a temperatura ambiente durante 3 días, con acetona o algún otro solvente; seguidamente se decanta y la acetona se evapora en un rotavapor (Verde, 2016). Se requiere aumentar solvente constantemente (González, 2004).

c. Extracción por Soxhlet:

Proceso de extracción continua del material sólido, el cual se coloca en un dedal de papel filtro, el cual se carga a la cámara del extractor Soxhlet, por donde pasa el solvente, ciclo que se repite muchas veces. La obtención también se puede realizar de manera directa se seca y tritura el material vegetal añadiendo directamente metanol, dejar enfriar el extracto si hubiera algún precipitado filtrar o decantar (Verde et al., 2016)



2.2.6 Medios de cultivo

Los medios de cultivo son definidos como el conjunto de elementos o sustancias que garantizan a los microorganismos u otras células los nutrientes necesarios para su conservación y/o desarrollo, estos elementos o sustancias pueden ser de origen orgánico o inorgánico, natural o artificial. Garantiza el crecimiento del organismo o célula, su identificación o diferenciación dentro de un conjunto de ellos e, incluso, inhibir el desarrollo de otros. Los ingredientes de los medios de cultivo, por su naturaleza y función, pueden ser agrupados como se describe a continuación: Agua, bases nutritivas (peptonas, hidrolizados y digeridos; extractos, infusiones y dializados), carbohidratos (azúcares, agar y derivados y almidones), sales minerales entre orgánicas e inorgánicas (macroelementos como fósforo, azufre sodio cloro, hierro y otros; microelementos como zinc y cobre), factores de crecimiento (vitaminas y proteínas) y otros (antibióticos y lípidos) (Rodríguez & Zhurbenko, 2018).

a. Tipos de medios de cultivo

- **Agar Dextrosa Sabouraud:** medio de cultivo selectivo para el desarrollo de hongos filamentosos y levaduras, este fue desarrollado para el cultivo de dermatofitos, este puede ser con antibióticos para la inhibición de gérmenes, el medio debe ser inoculado como un mínimo de 3 días a 25±2 °C (Rodríguez & Zhurbenko, 2018).
- **Agar Infusión Cerebro Corazón:** es un medio altamente nutritivo para el cultivo de microorganismos exigentes, por su alto contenido de glucosa es menos adecuados para los estudios de las formas hemolíticas, el medio



inoculado se incubaba de 18 a 24 horas a 35 +- 2° C (Rodríguez & Zhurbenko, 2018).

2.2.7 Actividad antifúngica

a. Definición

El concepto de antifúngico o antimicótico engloba cualquier sustancia capaz de producir una alteración de las estructuras de una célula fúngica que consiga inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia (Gregori, 2005).

b. Métodos de evaluación

Para Méndez & Herrera (2001) los métodos que se utilizan para realizar los métodos de evaluación antifúngicos son diversos entre ellos tenemos:

- **Dilución:** Esta técnica es utilizada para determinar la concentración mínima fungistática (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF).
- **Concentración Mínima Inhibitoria (CMI):** La concentración mínima inhibitoria o fungistática (CMI) se define como la mínima concentración de antimicrobiano (en $\mu\text{g}/\text{mL}$) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37°C (Horna et al., 2005).
- **Concentración Mínima Fungicida (CMF):** La concentración mínima fungicida (CMF) se refiere al agente o solución que



disminuye en 99.9% el crecimiento del hongo a partir de un inóculo de subcultivo puro (Neyra & Armas, 2018).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDIO

La investigación se realizó en la ciudad de Puno, está ubicada en la parte norte de la provincia de Puno, en el centro de la región Puno (Perú). La capital distrital se localiza a 15° 29' 27" de latitud sur y 70° 07' 37" de longitud oeste sobre los 3.825 msnm. Las evaluaciones Fitoquímicas y la resistencia a los antimicóticos se realizaron en el Laboratorio de Botánica y Biotecnología y pertenece a la Universidad Nacional del Altiplano, Puno- Perú. Las 10 Muestras de orina recolectadas de pacientes mujeres procedieron de Clínicas Particulares provenientes de la Ciudad de Juliaca.

Las plantas utilizadas para este trabajo fueron recolectadas de los mercados de la ciudad de Juliaca, entre ellos tenemos al mercado Cerro Colorado, Tupac Amaru y Dominical.

3.2 TIPO DE ESTUDIO

- **Diseño y tipo de investigación**

El diseño de estudio empleado es experimental puro, porque se determinó los virajes de color según intensidad, para registrar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios en los extractos etanólicos de las especies Salvia (*Lepechinia meyenii*) y Zapatilla (*Calceolaria* spp), asimismo, se evaluó el efecto de los tratamientos (concentraciones de extracto y controles positivos-negativos) en el crecimiento levaduriforme de la cepa determinándose la CMI y CMF. Y transversal por que se realizó entre los meses de agosto a octubre del año 2022.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

- **Población**

La población son 10 pacientes que asisten a 4 laboratorios y participaron en esta investigación de forma anónima; sin embargo, las unidades experimentales fueron de 400 por especie vegetal debido a los tratamientos y repeticiones aplicadas a cada cepa de *Candida albicans* que fue aislada los participantes.

- **Muestra**

La muestra es desde la perspectiva no probabilística por conveniencia, según la disposición de los participantes que brindan la información detallada en la siguiente tabla.

Tabla 1

Distribución de los participantes del estudio.

Laboratorios	Cantidad de muestras	Tipo de muestra
Laboratorio 1	2	ORINA
Laboratorio 2	3	ORINA
Laboratorio 3	1	ORINA
Laboratorio 4	4	ORINA
Total	10	

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2

Distribución de tamizajes fitoquímicos y determinación de CMI y CMF de los extractos etanólicos de las plantas medicinales salvia y zapatilla.

Actividad antifúngica	Plantas		<i>Lepechinia meyenii</i>		<i>Calceolaria spp</i>	
	Tratamiento		CMI	CMF	CMI	CMF
Cepas	1	8	5 rep	5 rep	5 rep	5 rep
	2	8	5 rep	5 rep	5 rep	5 rep
	3	8	5 rep	5 rep	5 rep	5 rep
	4	8	5 rep	5 rep	5 rep	5 rep
	5	8	5 rep	5 rep	5 rep	5 rep
	6	8	5 rep	5 rep	5 rep	5 rep
	7	8	5 rep	5 rep	5 rep	5 rep
	8	8	5 rep	5 rep	5 rep	5 rep
	9	8	5 rep	5 rep	5 rep	5 rep
	10	8	5 rep	5 rep	5 rep	5 rep
	10	8	5	5	5	5
Total			400	400	400	400

Nota: CMI: Concentración mínima fungistática; CMF: Concentración mínima fungicida. Se utilizaron 400 unidades experimentales por cada especie haciendo un total de 800 unidades experimentales por ambas especies.

3.4 METODOLOGIA

3.4.1 Determinación de la composición fitoquímica cualitativa (alcaloides, flavonoides, fenoles y taninos) del extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* y *Calceolaria spp*

3.4.1.1 Recolección de muestra vegetal

a. Técnica

Recolección manual



b. Fundamento

Las plantas cuentan con metabolitos secundarios con actividad antimicótica, que fueron probados *in vitro* e *in vivo* con buenos resultados, estas son de naturaleza peptídica y ricas en cisteína con capacidad de inhibir el crecimiento de los hongos al producir cambios morfológicos y daño en algunas de sus estructuras celulares (Mesa *et al.* 2004).

c. Procedimiento

De las plantas de salvia (*Lepechinia meyenii* [Walp] Epling) se colectaron las hojas, tallos y flores; también de la planta zapatilla o amayzapato (*Calceolaria* spp). Las plantas fueron secadas al ambiente en sombra en recipientes de plástico acondicionados con papel aluminio y semi machacadas en un mortero, con los cuales se obtendrán los extractos etanólicos 6 concentraciones diferentes. Estos procedimientos se realizaron en el Laboratorio de Botánica General de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA – Puno.

3.4.1.2 Obtención del extracto etanólico

a. Técnica

Maceración

b. Fundamento

Las plantas medicinales son extraídas y procesadas para consumo directo como medicina herbaria/tradicional o preparadas con fines experimentales. La preparación de plantas medicinales para fines



experimentales implica la recolección adecuada y oportuna de la planta, la autenticación por parte de un experto, el secado adecuado y la molienda. A esto le sigue la extracción, el fraccionamiento y el aislamiento del compuesto bioactivo cuando sea aplicable. Actualmente, la planta como fuente de medicina está ganando popularidad internacional debido a su origen natural, disponibilidad en las comunidades locales, menor costo de compra y facilidad de administración. La medicina herbal puede ser un tratamiento alternativo útil en caso de numerosos efectos secundarios y resistencia a los medicamentos (Abubakar & Hake, 2020).

c. Procedimiento

En el caso de la salvia se colectaron las hojas, tallos y flores que fueron seleccionadas y limpiadas, se desecaron bajo sombra por 7 días, seguidamente se llevó a secado en una estufa a 40 °C, temperatura que no daña los compuestos fitoquímicos, por 48 horas hasta lograr obtener una muestra completamente seca y de fácil trituración. Las hojas fueron molidas en un matraz lavado, seco y desinfectado con etanol hasta obtener un aspecto pulverulento de las muestras vegetales secas. Las plantas molidas, se guardaron en frascos oscuros, etiquetados con su nombre común, nombre científico, fechas de recolección y almacenamiento de la muestra y se almacenaron en un lugar fresco y seco hasta su uso siguiente.

La obtención de los extractos etanólicos de salvia y zapatilla se pesaron 10 g de hojas y 10 g de tallos-hojas-flores, respectivamente, las



que fueron maceradas por 24 horas en 100 ml de etanol al 50%, seguidamente se filtró la solución, y se conservó en un vaso de precipitado (Kasay *et al.*, 2013; Zapata, 2017). La obtención de extractos etanólicos fue realizado 2 veces para que acuda a las pruebas realizadas.

3.4.1.3 Análisis fitoquímico

Luego de obtener los extractos etanólicos de ambas plantas, se realizó la determinación de los fitoquímicos que presenta cada extracto.

A. Identificación de alcaloides:

a. Técnica

Colorimetría.

b. Fundamento

Los alcaloides ejercen una importante estimulación del sistema nervioso central y autónomo también actúan como estimulantes otros como inhibidores y pueden modificar la contractilidad de las paredes de los vasos sanguíneos (Verde et al, 2016). El principio para identificar los alcaloides es la precipitación de alcaloides con metales pesados. El reactivo de Dragendorff contiene bismuto, que es un metal muy pesado desde el punto de vista atómico. En la preparación del reactivo de Dragendorff, el nitrato de bismuto se disuelve en HCl (HNO₃ o ácido tartárico) para evitar reacciones de hidrólisis porque las sales de bismuto son hidrolizables. La reacción inducida por Dragendorff podría ser la



siguiente: la mayoría de los alcaloides tienen un grupo amino terciario R₃N. En esta sustancia química, el grupo puede reaccionar de manera similar al amoníaco (NH₃) y actuar como base, que reacciona con un ácido para formar una sal de amonio (Vargas, 2024).

c. Procedimiento

Se aplicó el método colorimétrico utilizando el reactivo Dragendorff, para ello se transfirió 5 ml del extracto etanólico a un tubo de ensayo, se agregó 2 ml del reactivo de Dragendorff, se homogenizó y realizó la lectura visual tomando en cuenta el rango de intensidad de la coloración final, una coloración café rojiza indica la presencia de alcaloides (Medina, 1997).

Tabla 3

Rango colorimétrico de valoración cualitativa de metabolitos secundarios.

Lectura	Rango
Color intenso	+++ = muy abundante
Color regular	++ = Abundante
Color débil	+ = Leve

Fuente: Medina, 1997.

B. Identificación de fenoles.

a. Técnica

Colorimetría.

b. Fundamento



Los fenoles son sustancias sólidas o líquidas, de olores característicos, solubles en agua y muy solubles en alcohol o éter. La presencia de grupos hidroxilos en los fenoles indican que tienen la capacidad de formar enlaces de hidrógeno intermoleculares. Estos enlaces de hidrógeno confieren a los fenoles puntos de ebullición altos en comparación con moléculas de similares pesos moleculares. Los fenoles se comportan como ácidos débiles, protonando al agua lo que puede generar un anión fenóxido (ArO^-). Los fenoles son más ácidos que los alcoholes, ya que el anión fenóxido esta estabilizado por efecto de resonancia (Pozo & Salazar, 2017).

En esta reacción el Fe se une al grupo fenóxido. Los iones fenóxido son más reactivos que los fenoles hacia la sustitución aromática electrófila, ya que tienen una carga negativa reaccionan con electrófilos para formar complejos. Esta respuesta se debe al ataque producido por el Ion cloruro al hidrogeno del grupo hidroxilo provocando una ruptura de enlace y la unión del grupo fenoxido al hierro, considerando que las disoluciones de fenoles presentan coloración, también se estima una reacción de oxidación del fenol llamada Quinona las cuales son coloreadas (Pozo & Salazar, 2017).

c. Procedimiento



Se utilizo el método colorimétrico de la reacción con cloruro férrico, en un tubo de ensayo se añadió 5 ml del extracto etanólico y 2 ml de FeCl_3 al 5%, se homogenizo y realizo la lectura visual, considerando la intensidad de la coloración final, donde una coloración verde oscura indica la presencia de fenoles (Medina, 1997).

Tabla 4

Rango colorimétrico de valoración cualitativa de metabolitos secundarios.

Lectura	Rango
Color intenso	+++ = muy abundante
Color regular	++ = Abundante
Color débil	+ = Leve

Fuente: Medina, 1997.

C. Identificación de flavonoides.

a. Técnica

Colorimetría.

b. Fundamento

En la reacción con NaOH se produce la ruptura del anillo C de un flavonoide el cual puede ser de una flavona o de una flavanona, esta ruptura produce la formación de una chalcona lo que se evidencia con una coloración amarilla que puede variar en intensidad (Rengifo, 2013).



c. Procedimiento

Se utilizo el método colorimétrico de la reacción con NaOH 20%, en un tubo de ensayo se añadió 5 gotas de hidróxido de sodio al 20% al extracto etanólico, su resultado positivo a la presencia de flavonoides se estableció al cambiar de coloración.

Tabla 5

Rango colorimétrico de valoración cualitativa de metabolitos secundarios.

Lectura	Rango
Color intenso	+++ = muy abundante
Color regular	++ = Abundante
Color débil	+ = Leve

Fuente: Medina, 1997.

D. Identificación de taninos.

a. Técnica

Colorimetría.

b. Fundamento

La acumulación de taninos puede verificarse en cualquier tipo de tejido de la planta y en función de su ubicación. Los taninos con alto peso molecular, precipitan mucho mejor que los con menor. Incluso se generan una mejor precipitación a aquellos taninos que tengan presentes ésteres de ácido gálico entre sus subunidades (Lobatón et al., 2020).

c. Procedimiento

Se utilizó la reacción con gelatina-cloruro de sodio (5 ml de gelatina al 20% [p/v] y 10 ml de solución saturada de NaCl al 35.9% [p/v]), en un tubo de ensayo a 1 ml del extracto etanólico se añadió 3 gotas de gelatina - cloruro de sodio, al inicio de la reacción se formó un aspecto de nube en la solución, luego se realizó la centrifugación y como resultado se obtuvo una coloración blanca, lo cual indica la presencia de taninos (Avello, 2016). Para corroborar se utilizó el método colorimétrico con cloruro de sodio, en un tubo de ensayo se agregó 5 ml del extracto etanólico y 2 ml de NaCl al 5%, se mezcló y se observó la intensidad de la coloración final, una coloración crema indicó la presencia de taninos (Medina, 1997). Los alcaloides, los fenoles y los taninos, se visualizaron en el siguiente rango de coloración:

Tabla 6

Rango colorimétrico de valoración cualitativa de metabolitos secundarios.

Lectura	Rango
Color intenso	+++ = muy abundante
Color regular	++ = Abundante
Color débil	+ = Leve

Fuente: Medina, 1997.

3.4.1.4 Variables analizadas en la investigación



- **Variable Independiente:** Especie (*Lepechinia meyenii* y *Calceolaria* spp), actividad fungicida (CMI y CMF), repetición (1,2,3,4,5).
- **Variable dependiente:** % de concentración etanólico.
- **Análisis estadístico de los resultados:**

La prueba de hipótesis de la CMI y CMF respecto a *Candida albicans* por efectos antimicóticos *in vitro* de extractos etanólicos de las especies *Lepechinia meyenii* y *Calceolaria* spp, son mediante el método estadístico T de Student con una muestra con el software estadístico Minitab 19, ya que no se cumplen la normalidad (ver anexo 5).

Y: % de concentración etanólico.

X: Especie (*Lepechinia meyenii* y *Calceolaria* spp), actividad fungicida (CMI y CMF)

3.4.2 **Determinación de la concentración mínima fungistática (CMI) y fungicida (CMF) de extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling y *Calceolaria* spp en concentraciones de 5, 10, 20, 40, 80 y 100% sobre *Candida albicans*.**

3.4.2.1 **Tratamiento de extracto etanólico de Salvia (*Lepechinia meyenii*) y Zapatilla (*Calceolaria* spp)**

a. **Técnica**

Microbiología



b. Fundamento

Las plantas medicinales utilizadas en la elaboración de los extractos son la materia prima cuyas partes se emplean para la elaboración de los extractos que luego pueden suministrarse en diferentes formas. La industria farmacéutica actual se ha basado en los conocimientos tradicionales para la síntesis, la elaboración y el desarrollo de fármacos o nuevas aplicaciones de estos (Benítez et al., 2018).

c. Procedimiento

Los extractos etanólicos obtenidos previamente fueron filtrados en papel Whatman N° 4, el precipitado fue resuspendidas en una solución de buffer fosfato (PBS 1X: Osmolaridad 308 mOsm/l) y finalmente almacenado a 4 °C hasta su utilización (Neyra & Armas, 2018).

A partir de ellos se obtuvo las concentraciones experimentales siguientes:

- T1: 5% = 5 ml del extracto etanólico y 95 ml de buffer fosfato.
- T2: 10% = 10 ml del extracto etanólico y 90 ml de buffer fosfato.
- T3: 20% = 20 ml del extracto etanólico y 70 ml de buffer fosfato.
- T4: 40% = 40 ml del extracto etanólico y 60 ml de buffer fosfato.
- T5: 80% = 80 ml del extracto etanólico y 20 ml de buffer fosfato.
- T6: 100% = 100 ml del extracto etanólico y 0 ml de buffer fosfato.



- T7: fluconazol = control positivo (tableta de 150 mg diluido en 100 ml agua destilada)
- T8: agua destilada = control negativo (Zapata, 2017).

3.4.2.2 Aislamiento fúngico

a. Técnica

Cultivo *in vitro* en Agar Dextrosa Sabouraud (AS)

b. Fundamento

El urocultivo es el método idóneo para el estudio de infección del tracto urinario, permitiendo diferenciar cualitativa y cuantitativamente una contaminación de una candiduria significativa. (INS, 2007).

Agentes etiológicos diferentes al género *Candida* obliga a la realización de recuentos de colonias y puede sembrarse inclusive el sedimento urinario (INS, 2007).

c. Procedimiento

Inocular 1 ó 10 μ L de orina no centrifugada en una placa Petri que contenga agar Sabouraud dextrosa con antibiótico (ASD)(INS, 2007).

C. albicans fue aislada a partir de muestras de orinas positivas a infecciones urinarias de pacientes de consultorios externos de centros de salud de la ciudad de Juliaca, hasta obtener cultivos puros. A continuación,



se verifico la viabilidad de *C. albicans* a ensayar, preparando cultivos recientes de 18 a 24 horas en agar Sabouraud a 35 ± 2 °C.

3.4.2.3 Prueba del tubo germinativo

a. Técnica

Microbiológica

b. Fundamento

Es la prueba más rápida, económica y más utilizada, como prueba preliminar para la identificación del 90-95% de los aislados de *Candida albicans* es la prueba del tubo germinal, conocida también como prueba de filamentación en suero o filamentación precoz. Dicha prueba se ha realizado tradicionalmente en un tubo que contiene 0,5ml de suero, al cual se le inocula la cepa en estudio y se incuba a 37 °C (Duarte et al., 2009)

c. Procedimiento

Suspender un inóculo de la cepa pura de *Candida* con 24 horas de desarrollo en 0,5 mL de suero humano o de conejo. Incubar a 35 – 37 °C por 2h y 30 min. Colocar 2 ó 3 gotas de la suspensión en una lámina portaobjeto y cubrir con lámina cubreobjeto y observar al microscopio con objetivo de 40X Interpretación: La prueba es positiva al visualizar una estructura elongada que se origina a partir de la levadura (INS, 2007).



3.4.2.4 Evaluación de la actividad antifúngica

A. Dilución

a. Técnica

Macrodilución

b. Fundamento

En el método de macrodilución se emplea por cada combinación microorganismo/antimicrobiano una batería de tubos. Habitualmente se prepara la batería de tubos con 1ml de medio estéril sin antimicrobiano. Para cada paso de dilución se debe emplear una pipeta diferente. La serie de tubos se completa con uno de control sin antimicrobiano que solamente tiene 1 ml de caldo (Picazo, 2000).

c. Procedimiento

La unidad experimental fue un tubo ensayo de tamaño estándar (1.5 por 15 cm), el cual contenía 100 μ l del inóculo con la levadura patógena, además de 1 ml del extracto etanólico y 1 ml de caldo triptosa. Para determinar la CMI se incubó cada unidad experimental durante 24 horas a 37 ° C, finalizado este tiempo se observó la ausencia o presencia de la turbidez que mostro crecimiento micótico (Zapata, 2017).

A partir de estos cultivos con crecimiento activo, se colectaron 3 a 5 colonias que fueron resuspendidas en 5 ml de suero fisiológico (NaCl 0.9%). La suspensión obtenida se homogenizó por 15 s y la turbidez se



ajustó a la escala McFarland 0.5 que permitió determinar un recuento aproximado de levaduras presentes en la dilución CLSI-2013 (Torres, 2014). Se tomo una porción de 750 μ l de la suspensión de *Candida albicans* ajustada al estándar 0.5 de McFarland, a ella se agregó 2250 μ l de caldo infusión cerebro corazón, para que interactúe con las concentraciones de extractos etanólicos (5%, 10%, 20%, 40%, 80% y 100%) durante 24 horas a 37 °C. Para poder tener un control de los cultivos realizados se prepararon 2 tubos de ensayo, control positivo (inoculo de *Candida albicans* 100 μ l, fluconazol diluido en agua destilada 1 ml y cultivo estéril 1ml) y control negativo (cultivo estéril 1ml e inoculo de *Candida albicans* 100 μ l).

Luego del tiempo exposición se procedió a inocular 50 μ l de cada suspensión micótica con los extractos a diferentes concentraciones en el medio de cultivo de Agar infusión cerebro corazón en placas de Petri, que se cultivaron en su superficie utilizando una espátula de Drigalski (Reyes & Fernández, 2013).

B. Difusión de los resultados de dilución

a. Técnica

Cultivo *in vitro* en Agar Infusión Cerebro Corazón

b. Fundamento



El agar MH se ha utilizado en pruebas de susceptibilidad de *Candida* spp por difusión en disco frente a fluconazol, anfotericina B, posaconazol y voriconazol (Mattei et al. 2014).

c. Procedimiento

La CMF se cuantifico mediante el número de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) (Alemdar & Agaoglu, 2009), estableciéndose la CMF que determino el efecto fungicida para la levadura. Los controles que se utilizaron serán un control negativo (medio de cultivo con solo extracto) con ello se verifico la presencia de contaminantes microbianos y el control positivo (medio de cultivo con la cepa pura sin extracto etanólico) con la finalidad de verificar la viabilidad celular (Reyes & Fernandez, 2014).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de los resultados es contemplado de acuerdo a los objetivos específicos presentados con anterioridad, respecto a la composición fitoquímica de los extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* y *Calceolaria spp* sobre *Candida albicans*, la evaluación antifúngica CMI y CMF.

4.1 COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA PRELIMINAR DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Lepechinia meyenii* Y *Calceolaria spp*.

Para determinar la fitoquímica cualitativa de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling y *Calceolaria spp* se realizó en 5 repeticiones.

Tabla 7

Análisis fitoquímico cualitativo de Lepechinia meyenii.

METABOLITOS SECUNDARIOS	<i>Lepechinia meyenii</i>					General
	1	2	3	4	5	
Alcaloides	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)
Fenoles	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)
Flavonoides	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Taninos	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Nota: Color intenso +++ = muy abundante, Color regular ++ = Abundante, Color débil + = Leve.

Tabla 8*Análisis fitoquímico cualitativo de Calceolaria spp.*

METABOLITOS SECUNDARIOS	<i>Calceolaria spp</i>					
	1	2	3	4	5	General
Alcaloides	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Fenoles	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)
Flavonoides	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)
Taninos	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Nota: Color intenso +++ = muy abundante, Color regular ++ = Abundante, Color débil + = Leve.

La fitoquímica cualitativa, en *Lepechinia meyenii* (Tabla 7) presenta que en alcaloides es de una coloración abundante (++) , fenoles de coloración muy abundante (+++), flavonoides de una coloración débil (+) y en taninos también presenta una coloración débil (+).

En el estudio realizado por Reina et al, (2016) determinó que el contenido de compuestos fenólicos totales es mayor en el extracto etanólico de tomillo, casi 2,5 veces superior que en el de salvia. Por otro lado, el estudio Flores (2024) del análisis de la composición fitoquímica del extracto etanólico (EE) de la planta *Bixa orellana* (Achiote). determinó especialmente la presencia de fenoles (+++), seguido de taninos (++) y alcaloides (+). En contraste, Mamani (2023) determinó la composición fitoquímica preliminar de metabolitos secundarios en extractos etanólicos de achiwa (*Cybistax antispyhilitica*) presentó abundantes (++) concentraciones de alcaloides, taninos y muy abundantes contenidos de fenoles (+++), lo cual le atribuye propiedades farmacológicas en los consumidores. Estos fitoquímicos contribuyen con mejora los mecanismos de defensa biológica (Kennedy, 2019).



Urcuhuaranga, (2011) en su estudio acerca de la especie vegetal *Lepechinia meyenii*, quien trabajo con el extracto hidroalcohólico de las hojas indica la presencia de los siguientes metabolitos secundarios: taninos, fenoles, flavonoides, triterpenos, esteroides, quinonas, lactonas y cumarinas, catequinas y azucars reductores. Mientras tanto, Castillo (2004) hizo otro estudio de metabolitos secundarios donde determino compuestos aislados a partir del extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* (Walp.) fueron: el ácido ursólico y el flavonoide 3, 5,3'-trihidroxi-4'-metoxiflavona (diosmetina) los que no presentaron significativa actividad antioxidante (0,0 % y 1,33 % a la concentración de 10 µg/mL respectivamente).

De manera similar, Barnechea (2020), realizo un estudio experimental sobre el extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* donde describe la presencia de metabolitos secundarios llega a la conclusión que esta planta tiene una gran concentración de taninos, en menor concentración de flavonoides y alcaloides. En paralelo, el análisis fitoquímico cualitativo en el estudio de Salvatierra (2023) reveló la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, taninos, esteroides y triterpenoides en el extracto, lo cual sugiere una asociación con su efecto analgésico.

Respecto a la composición fitoquímica de *Calceolaria* spp (Tabla 8) alcaloides presenta una coloración débil (+), los fenoles manifiestan una coloración muy abundante (+++), los flavonoides (++) exhibieron una coloración regular y finalmente los taninos prestaron una coloración débil (+).

Nuestros resultados obtenidos son comparados con los resultados del análisis fitoquímico de las estructuras aéreas (tallo, hoja y flor) de *C. scapiflora* y semillas de *P. americana* var. fuerte mostró la presencia de cuatro metabolitos importantes, se encontró



cantidad abundante de compuestos fenólicos en *C. scapiflora*, mientras que en semillas de *P. americana* lactonas sesquiterpénicas y triterpenos/esteroides, en cantidad moderada flavonoides y lactonas sesquiterpénicas en *C. scapiflora* y compuestos fenólicos en semillas de *P. americana* var. Fuerte (Mostajo, 2018). Otro estudio de Areones et al (2022) de las especies del género *Calceolaria*, diferentes estudios demostraron que los extractos de las partes aéreas de *Calceolaria integrifolia* y *Calceolaria talcana* contienen triterpenos, flavonoides verbascósido, martinósido, naftoquinonas que pueden ser usados como fumigantes, repelentes y bioinsecticidas; asimismo, son inhibidores de la colinesterasa. Otro estudio hecho por Almeyda (2017) acerca de la especie de *Calceolaria engleriana* obtuvo como resultado la presencia de metabolitos secundarios como catequinas, lactonas, saponinas, flavonoides, fenoles, quinonas, triterpenos y azúcares.

Por otro lado, Cespedes et al (2013) aisló desde *Calceolaria integrifolia* S.L. algunos metabolitos secundarios de importancia biológica como es el caso de feniletanoides, naftoquinonas, triterpenos y diterpenos con esqueletos de tipo abietano, pimarano, estemodano, estemarano y thyriflorano con presumible actividad insecticida. Ruiz (2013) determinó la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas y quinonas en los extractos de estudio

4.2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y fungicida (CMF) de extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling y *Calceolaria* spp en concentraciones de 5%, 10%, 20%, 40%, 80% y 100% sobre *Candida albicans*.

Los resultados que a continuación se presentan son de las 10 muestras y 5 repeticiones sobre *Candida albicans* y el efecto antimicótico *in vitro* de extractos

etanólicos de las especies *Lepechinia meyenii* y *Calceolaria* spp, los efectos antimicóticos a evaluar son la concentración mínima fungistática (CMI) que se estableció mediante la turbidez del medio líquido y la concentración mínima fungicida (CMF) mediante el conteo de UFC/ml detallados en la metodología empleada en el capítulo III, la información resumida se presenta a continuación:

Tabla 9

Análisis descriptivo respecto al efecto antimicótico de CMI y CMF in vitro de extractos etanólicos de Lepechinia meyenii sobre Candida albicans.

<i>Lepechinia meyenii</i>				
Muestra	Repeticiones	Tratamientos	CMI	CMF
1	5	8	10.00%	32.00%
2	5	8	9.00%	24.00%
3	5	8	10.00%	20.00%
4	5	8	9.00%	24.00%
5	5	8	9.00%	24.00%
6	5	8	10.00%	24.00%
7	5	8	9.00%	20.00%
8	5	8	10.00%	24.00%
9	5	8	9.00%	24.00%
10	5	8	10.00%	20.00%
General	50	80	9.50%	23.60%

Nota: Los valores CMI (concentración mínima fungistática) y CMF (concentración mínima fungicida) son respecto a la media de las 5 repeticiones.

Se observa que en las 10 muestras obtenidas con sus 5 repeticiones de *Candida albicans*, respecto al efecto antimicótico *in vitro* de extractos etanólicos de la especie *Lepechinia meyenii*, la CMI oscila entre concentraciones de 9% y 10%, en general se tiene una media de CMI de 9.5%; con respecto a la CMF, se tiene una CMF de menor concentración de 20%, la CMF mayor es de 32% y en general las muestras presentan una media de CMF de 23.60%.

Estos resultados descriptivos presentados exponen que las muestras de CMI y CMF de *Candida albicans* por efectos antimicóticos *in vitro* de extractos etanólicos de la especie *Lepechinia meyenii*, son mayores de 20 % de concentración en CMF (23.60% de media) que en CMI (9.5% de media).

Tabla 10

Análisis descriptivo respecto al efecto antimicótico de CMI y CMF in vitro de extractos etanólicos de Lepechinia meyenii sobre Candida albicans.

Efecto Antimicótico	N	Media	IC al 95%	Valor p	T
CMI	50	0.095	(0.09069; 0.09931)	0.024	-2.33

Nota: N representa los valores de CMI (concentración mínima fungistática), Media es la media de los valores de CMI, IC es el intervalo de confianza de los valores de CMI, si el valor p es mayor a 0.05 se acepta la hipótesis nula y T representa el valor estadístico de la prueba de una sola muestra.

En la investigación de Guallpa et al. (2024) indica que el orégano logra ser efectivo en concentraciones más bajas como el 1%, 5% y 10% contra *Candida albicans* si se exponen a un tiempo de 24 horas. Por lo que se plantea $H_a: \mu \neq 0.1$.

El efecto antimicótico de CMI *in vitro* de extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* sobre *Candida albicans* es significativo ($p=0.024$, $t=-2.33$), encontrándose que se encuentra entre el intervalo de confianza (0.09069; 0.09931).

Resultado similar a lo presentado por Mestanza & Vásquez (2018) obtuvieron que las cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina fueron susceptibles al extracto acuoso de *Allium sativum* L (ajo), observándose que a mayor concentración mayor fue la susceptibilidad y la CMI del extracto de ajo sobre *C. albicans* fue de 16.6% (25ul/ml) originando susceptibilidad de todas las cepas estudiadas.



Igualmente, Muthular et al. (2019) trabajo en medicamentos antitumoral dietilestilbestrol y fluconazol, los resultados obtenidos se ajustan de manera adecuada a las curvas teóricas saturables que representan la relación entre la concentración del inhibidor y la respuesta. Las concentraciones inhibitorias mínimas observadas fueron las siguientes: para medicamento antitumoral dietilestilbestrol y fluconazol, 28.18 $\mu\text{g/ml}$ y 4,90 $\mu\text{g/ml}$ (ATCC).

Así mismo, Machaca (2024) indica que la inhibición con el extracto etanólico al 100% fue de 19.68 mm, lo que equivale a un 78.95% de inhibición según Duraffourd, mientras que con el aceite esencial se logró una inhibición de 23.25 mm (84.21% de sensibilidad Duraffourd), teniendo como control la ceftriaxona, que mostró una inhibición de 25.86 mm.

De manera similar, Geraldí et al (2022) confirman las actividades antifúngicas de los extractos metanólicos de 11 plantas medicinales tropicales de Indonesia contra *Candida albicans* ATCC 10231. Entre ellos, los extractos metanólicos de *C. citratus*, *C. xanthorrhiza*, *C. aeruginosa* y *Z. officinale* var. *rubrum* tuvieron el valor más bajo de MIC (concentración mínima fungistática) mientras que, en una concentración relativamente baja, *Z. officinale* var. *rubrum* y *C. longa* mostraron una actividad antifúngica comparable a la nistatina. Este estudio proporciona el primer informe sobre los valores de MIC (concentración mínima fungistática) del fruto de *S. aromaticum*, *C. xanthorrhiza* y extracto metanólico de *Z. officinale* var. *rubrum*.

Simultáneamente, Urcuhuaranga (2011) en su estudio acerca de la especie vegetal *Lepechinia meyenii*, trabajo con el extracto hidroalcohólico de las hojas donde logro obtener actividad antifúngica sobre *Candida glabrata*, con un 85.1 % de inhibición

seguida de *Candida albicans* con un 84 % de inhibición. La concentración mínima fungistática estuvo dada por 50 mg/ml en *C. albicans* y de 25mg/ml para *C. glabrata*.

Tabla 11

Prueba de hipótesis respecto al efecto antimicótico de CMF in vitro de extractos etanólicos de Lepechinia meyenii sobre Candida albicans

Efecto Antimicótico	N	Media	IC al 95%	Valor p	T
CMF	50	0.236	(0.2139; 0.2581)	0.002	3.28

Nota: N representa los valores de CMF (concentración mínima fungicida), Media es la media de los valores de CMF, IC es el intervalo de confianza de los valores de CMF, si el valor p es mayor a 0.05 se acepta la hipótesis nula y T representa el valor estadístico de la prueba de una sola muestra.

En la investigación de Vallejos (2017) obtuvo un efecto antimicótico a partir de una concentración de 20% (12 ug/ml) de extracto acuoso de hojas de *Rosamarinus officinalis* (romero) sobre *Candida albicans*. Por lo que se plantea $H_a: \mu \neq 0.2$.

El efecto antimicótico de CMF *in vitro* de extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* sobre *Candida albicans* es menor al nivel de significancia ($p=0.002$, $t=3.28$), por lo que se acepta $H_a: \mu \neq 0.2$, encontrándose entre el intervalo de confianza (0.2139; 0.2581).

Resultados que son comparados con el estudio de Geraldí et al (2022) confirman las actividades antifúngicas de los extractos metanólicos de 11 plantas medicinales tropicales de Indonesia contra *Candida albicans* ATCC 10231. Entre ellos, los extractos metanólicos de *C. citratus*, *C. xanthorrhiza*, *C. aeruginosa* y *Z. officinale* var. *rubrum* tuvieron el valor más bajo MFC (concentración mínima fungicida), mientras que en una concentración relativamente baja, *Z. officinale* var. *rubrum* y *C. longa* mostraron una actividad antifúngica comparable a la nistatina. Este estudio proporciona el primer



informe sobre los valores y MFC (concentración mínima fungicida) del fruto de *S. aromaticum*, *C. xantorrhiza* y extracto metanólico de *Z. officinale* var. *rubrum*.

De manera similar, Urcuhuaranga (2011) en su estudio acerca de la especie vegetal *Lepechinia meyenii*, trabajo con el extracto hidroalcohólico de las hojas donde logro obtener actividad antifúngica sobre *Candida glabrata*, con un 85.1 % de inhibición seguida de *Candida albicans* con un 84 % de inhiacion. La concentración mínima fungicida estuvo dada por 100 mg/ml en *C. albicans* y de 50mg/ml para *C. glabrata*.

Igualmente, por Alves et al. (2021) la mayoría de las cepas evaluadas utilizadas en los estudios son cepas de referencia, lo cual es muy importante para la evaluación de los resultados de la investigación porque las cepas de referencia se utilizan en las pruebas de productos, como controles positivos y negativos, como organismos indicadores, la síntesis de compuestos antifúngicos es una estrategia importante para la obtención de nuevos fármacos antifúngicos con una eficacia similar o superior a la observada para los fármacos disponibles. El descubrimiento de nuevos agentes terapéuticos con diferentes mecanismos de acción permite ampliar el espectro de acción frente a microorganismos resistentes.

Tabla 12

Análisis descriptivo respecto al efecto antimicótico de CMI y CMF in vitro de extractos etanólicos de Calceolaria spp sobre Candida albicans.

<i>Calceolaria spp</i>				
Muestra	Repeticiones	Tratamientos	CMI	CMF
1	5	8	9.00%	24.00%
2	5	8	9.00%	24.00%
3	5	8	9.00%	24.00%
4	5	8	10.00%	20.00%
5	5	8	9.00%	24.00%
6	5	8	9.00%	24.00%
7	5	8	10.00%	24.00%
8	5	8	9.00%	24.00%
9	5	8	10.00%	24.00%
10	5	8	9.00%	24.00%
General	50	80	9.30%	23.60%

Nota: Lo valores CMI (concentración mínima fungistática) y CMF (concentración mínima fungicida) son respecto a la media de las 5 repeticiones.

Se observa en los datos presentados de 10 muestras con sus 5 repeticiones obtenidas de *Candida albicans*, respecto al efecto antimicótico *in vitro* de extractos etanólicos de la especie *Calceolaria spp*, la menor CMI es de 9% y la mayor CMI es de 10%, en general se tiene una media de CMI de 9.3% de concentración etanólica de la especie *Calceolaria spp*; con respecto a la CMF el menor valor presentado es de 20% y la mayor es de 24%, obteniéndose un promedio de CMF de 23.60% de concentración etanólica de la especie *Calceolaria spp*.

De estos resultados, respecto al efecto antimicótico *in vitro* de extractos etanólicos de la especie *Calceolaria spp* sobre *Candida albicans* se observa que para la CMF (23.60%) se requiere una mayor concentración que para CMI (9.30%).

Tabla 13

Prueba de hipótesis respecto al efecto antimicótico de CMI in vitro de extractos etanólicos de Calceolaria spp sobre Candida albicans.

Efecto Antimicótico	N	Media	IC al 95%	Valor p	T
CMI	50	0.093	(0.08802; 0.09798)	0.007	-2.82

Nota: N representa los valores de CMI (concentración mínima fungistática), Media es la media de los valores de CMI, IC es el intervalo de confianza de los valores de CMI, si el valor p es mayor a 0.05 se acepta la hipótesis nula y T representa el valor estadístico de la prueba de una sola muestra.

En la investigación de Guallpa et al. (2024) indica que el orégano logra ser efectivo en concentraciones más bajas como el 1%, 5% y 10% contra *Candida albicans* si se exponen a un tiempo de 24 horas. Por lo que se plantea $H_a: \mu \neq 0.1$.

El efecto antimicótico CMI *in vitro* de extractos etanólicos de *Calceolaria spp* sobre *Candida albicans* es significativo ($p=0.007$, $t=-2.82$), por lo que se acepta $H_a: \mu \neq 0.1$, hallándose entre el intervalo de confianza (0.08802; 0.09798) de concentración.

Estos resultados son comparados con los estudios de Wen et al (2011) donde el extracto etanólico de *Psidium acutangulum* mostró una buena actividad antifúngica *in vitro* frente a diversos hongos patógenos humanos. Los estudios de fraccionamiento bioquímico sobre el extracto etanólico de *P. acutangulum* mostraron que la actividad antifúngica de dicha especie se debe principalmente a la 3'-formil-2',4',6'-trihidroxidihidrochalcona.

Por otro lado, Latti (2019) en su estudio evaluó la eficacia de los extractos de 4 especies estos mostraron grados variables de zonas de inhibición contra *C. albicans*. El extracto de canela mostró la máxima actividad antifúngica con una zona de inhibición de $49,3 \pm 0,52$ mm, seguido del comino ($44,7 \pm 0,37$ mm), el laurel ($15,9 \pm 0,34$ mm) y la

pimienta negra ($13,9 \pm 0,38$). Los resultados de la CMI entre los cuatro extractos, se observó que la canela tenía la CMI más baja ($< 0,05$ mg/ml) contra *C. albicans*, seguida del comino (0,1 mg/ml).

De igual forma, Meccatti (2023) demostró que los extractos combinados de plantas mostraron acción antifúngica y antibiofilm contra *Candida spp.*, y en algunos protocolos, como la aplicación de *R. officinalis* y *P. granatum* durante 30 min contra *C. krusei*, y 24 h contra *C. tropicalis*, se encontraron reducciones promedio del 50% en el biofilm.

Y, Ruiz (2013) mediante microdilución se determinó los extractos etanólicos de *Junglas neotropica*, *Psidium guajava* y *Terminalia catappa* a concentraciones de 79%, 75% y 100 % presentaron CMIs ≤ 1000 $\mu\text{g/mL}$, frente a *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* cepa clínica y *Microsporium canis*, respectivamente. Los extractos con la mayor actividad antifúngica fueron los de *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* y *Terminalia catappa*; con CMIs < 100 $\mu\text{g/mL}$

Tabla 14

Prueba de hipótesis respecto al efecto antimicótico de CMF in vitro de extractos etanólicos de Calceolaria spp sobre Candida albicans.

Efecto Antimicótico	N	Media	IC al 95%	Valor p	T
CMF	50	0.236	(0.2139; 0.2581)	0.002	3.28

Nota: N representa los valores de CMF (concentración mínima fungicida), Media es la media de los valores de CMI, IC es el intervalo de confianza de los valores de CMF, si el valor p es mayor a 0.05 se acepta la hipótesis nula y T representa el valor estadístico de la prueba de una sola muestra.



En la investigación de Vallejos (2017) obtuvo un efecto antimicótico a partir de una concentración de 20% (12 ug/ml) de extracto acuoso de hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Candida albicans*. Por lo que se plantea $H_a: \mu \neq 0.2$.

El efecto antimicótico CMF *in vitro* de extractos etanólicos de *Calceolaria* spp sobre *Candida albicans* resulta ser significativo ($p=0.002$, $t=3.28$), aceptándose así la hipótesis alternativa $H_a: \mu \neq 0.2$, con un intervalo de confianza para la concentración situado entre 0.2139 y 0.2581.

Resultados que coinciden con Zapata (2017) quien determinó los valores de CMI sobre *Candida albicans* y *Microsporum* sp equivalente a 12.5 mg/ml y la concentración mínima fungicida (CMF) para *Candida albicans* fue de 25 mg/ml y para *Microsporum* sp de 25 mg/ml y la sensibilidad mediante el método de difusión en agar (Kirby-Bauer) *Microsporum* spp presentó una mayor sensibilidad con un halo de 40 mm de diámetro, seguido de *Candida albicans* formando un halo 25 mm.

También Bakhtiari (2019), afirma que el extracto de cinamaldehído en comparación con la nistatina puede prevenir el crecimiento y la pérdida de *Candida albicans* y *Candida glabrata* con concentraciones más altas; dados los efectos antifúngicos de esta planta, se espera que pueda considerarse como una planta medicinal eficaz.

Sin embargo, Neyra y Armas (2018) menciona que el extracto metanólico de hojas y tallos de *Minthostachys mollis* presenta efecto fungistático y fungicida, también indica que pesar de que los resultados manifiestan el efecto fungistático y fungicida de *Minthostachys mollis*, el fármaco de primera elección, como el Clotrimazol, sigue teniendo mayor eficacia para la acción antifúngica.



Por otro lado, Huamani & Ruiz (2005), mencionan que las partes aéreas de *Hypericum laricifolium*, corteza de *Junglas neotropica* Diels., hojas de *Piper* spp, hojas de *Psidium guajava* L., corteza y hojas de *Schinus molle* L. y planta entera de *Spartium junceum* L. tienen actividad antifúngica significativa. Los extractos etanólicos a una concentración de 25 mg/ml, de las hojas de *Annona cherimolia* Mill., corteza y hojas de *Annona muricata* L. partes aéreas de *Bidens pilosa* y hojas de *Plantago major*, no tienen actividad antifúngica significativa en la prueba de difusión en agar contra *Candida albicans* ATCC 10231 *Candida albicans* cepa clínica.

Finalmente, Flores (2024) evaluó la susceptibilidad bacteriana utilizando la técnica de Kirby-Bauer, y los datos fueron analizados mediante regresión y correlación lineal, así como análisis de varianza (Fisher y Kruskal-Wallis), complementados con pruebas de comparaciones múltiples de T Student. En lo que respecta a las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) presenta asociación significativa ($r=-0,92$), mientras que las concentraciones mínimas bactericidas (CMB) que presenta alta asociación ($r=-0,93$).

V. CONCLUSIONES

PRIMERA: En la fitoquímica cualitativa de *Lepechinia meyenii* se determinó la presencia de metabolitos secundarios los cuales fueron evaluados cualitativamente logrado así afirmar que presenta alcaloides abundantes (++) , fenoles muy abundantes (+++), flavonoides y taninos levemente (+). Respecto a la composición fitoquímica de *Calceolaria* spp presenta fenoles muy abundantes (+++), los flavonoides abundantes (++) , alcaloides y finalmente los taninos levemente (+).

SEGUNDA: El efecto antimicótico CMI *in vitro* de extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* sobre *Candida albicans* presenta significancia ($p=0.024$, $t=-2.33$) por lo que se acepta el efecto fungistático al 10% de concentración de extracto etanólico. El efecto antimicótico CMF *in vitro* de extractos etanólicos de *Lepechinia meyenii* sobre *Candida albicans* presenta significación ($p=0.002$, $t=3.28$), por lo que se afirma que el efecto fungicida es al 40% de concentración de extracto etanólico. El efecto fungistático CMI *in vitro* de extractos etanólicos de *Calceolaria* spp sobre *Candida albicans* es significativo ($p=0.007$, $t=-2.82$), por lo que se acepta el efecto fungistático al 10% de concentración del extracto etanólico, hallándose en el intervalo de confianza (0.08802; 0.09798) de concentración. El efecto antimicótico CMF *in vitro* de extractos etanólicos de *Calceolaria* spp sobre *Candida albicans* resulta ser significativo ($p=0.002$, $t=3.28$), afirmándose así el efecto fungicida es al 40% del extracto etanólico.



VI. RECOMENDACIONES

PRIMERA: Se recomienda a futuros investigadores que deseen investigar *Lepechinia meyenii* y/o la especie *Calceolaria* spp comparar también los aceites esenciales de hojas, tallos y flores; así como indagar en nuevos factores que no hayan sido considerados en este trabajo de investigación.

SEGUNDA: Se recomienda a la universidad considerar el desarrollo de proyectos basados en plantas de nuestro altiplano peruano, debido a que los medicamentos recetados actualmente van perdiendo su efectividad por la resistencia que hacen los diferentes agentes etiológicos, en este trabajo de investigación se demostró la actividad antifúngica de dos plantas en relación a un hongo que tiene importancia clínica.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abubakar, A. R. & Haque M. (2020). Preparación de plantas medicinales: procedimientos básicos de extracción y fraccionamiento con fines experimentales. *J. Pharm. Ciencias Bioaliadas*. 12(1): 1-10 DOI: [10.4103/jpbs.JPBS.175.19](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS.175.19) Epub 2020 Jan 29. PMID: 32801594; PMCID: PMC7398001.
- Alemdar, S. & Agaoglu S. (2009). Investigation of in vitro antimicrobial activity of Aloe vera juice. *J Anim Vet Adv*. 8 (1): 99-102.
- Almeyda, R. W. A. (2017). Fenoles totales y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay”, Ayacucho 2017.[Tesis de químico, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga]. <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/2e7d83c9-3b3b-49da-9413-809d51b134f8/content>
- Alves, D. D. N., Ferreira, A. R., Duarte, A. B. S., Melo, A. K. V., de Sousa, D. P., & Castro, R. D. D. (2021). Breakpoints for the Classification of Anti-Candida Compounds in Antifungal Screening. *BioMed research international*, 2021(1), .DOI: [10.1155/2021/6653311](https://doi.org/10.1155/2021/6653311)
- Arenas, R., Pachón E., Méndez G. & Guzmán A. (2009). Estudio del efecto inhibitorio de extractos de *Salvia scutellarioides* sobre la actividad de la enzima convertidora de angiotensina. *Rev. Universitas. Scientiarum*. Vol. 14 (2-3): 141-150. <http://www.scielo.org.co/pdf/unsc/v14n2/v14n2a03.pdf>.
- Aronés-Jara, Marco Rolando, Cárdenas-Landeo, Edgar, Luna-Molero, Hugo Roberto, Barbarán-Vilcatoma, Stephany Massiell, & Gómez-Quispe, Mónica. (2022). Tamizaje fitoquímico, contenido de compuestos fenólicos y potencial antioxidante de trece plantas medicinales de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 88(2), 165-179. Epub 30 de octubre de 2022. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v88i2.388>



- Avello, Z. (2016). *Determinación del contenido de taninos y evaluación de la disminución del infiltrado celular de distintos genotipos de Ugni molinae Turcz* [Tesis de Químico Farmacéutico, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Santiago – Chile]. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/144697/Determinacion-del-contenido-de-taninos-y-evaluacion-de-la-disminucion-del.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Bakhtiari S, Jafari S, Taheri JB, Kashi TSJ, Namazi Z, Iman M, Poorberafeyi M. The Effects of Cinnamaldehyde (Cinnamon Derivatives) and Nystatin on *Candida Albicans* and *Candida Glabrata*. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Apr 10;7(7):1067-1070. doi: 10.3889/oamjms.2019.245. PMID: 31049082; PMCID: PMC6490497.
- Balarezo, L. G. (2018). Plantas medicinales: Una farmacia para la salud pública. *Paideia* 8(7). <https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/624679/Plantamedicinal.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Barnechea, D.L.F.A. (2020) *Evaluacion in vitro de la actividad antibacteriana del gel de Lepechinia meyenii (Walp) Epling “Pacha salvia” frente a Staphylococcus sp. Aislados en infecciones post cesárea en pacientes del Hospital Nacional Madre Niño “San Bartolomé”, Lima - Perú.* [Tesis de biólogo, Facultad de Ciencia & Filosofía “Alberto Cazorla Talleri”, Universidad Peruana Cayetano Heredia]. https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/8499/Evaluacion-BarnecheadelaFuente_Alejandro.pdf;jsessionid=E070917F89D9729E646D5E4396B58341?sequence=1
- Bassetti, M., Righi E., Ansaldi F., Merelli M., Trucchi C., De Pascale G., et al. (2014). A multicenter study of septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med.* 40 (6): 839-45. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v35n1/a19v35n1.pdf>.
- Benitez, B. R., Sarria, V. R., Gallo, C. J., Perez, P. N., Alvarez, S. J. H., Giraldo, A. C. (2018). Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad de Ciencias Basicas*. DOI: [10.18359/rfcb.3597](https://doi.org/10.18359/rfcb.3597)



- Bilbao, N. (2018). *Estado actual de las resistencias de Candida a los fármacos antifúngicos y estudio de los mecanismos implicados* [Trabajo Fin de Grado en Medicina. Facultad de Medicina y Enfermería, UPV – EHU]. España. 34 p. https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/30830/TFG_Bilbao_Bilbao_Rev.pdf.
- Castillo Romero, P. C. (2004). *Estudio químico y de actividad: antioxidante en Lepechinia meyenii (Walp.)* [Tesis de grado, Pontífice Universidad Católica del Perú]. <https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/20.500.12404/92>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2017). Recuperado de www.cdc.gov.
- Cespedes, C., Muñoz, E., Werner, E. & Alarcón, J. (2013). Búsqueda de actividad biocida en *Calceolaria Intergrifolia* S.L. (Calceolariaceae: Scrophulariaceae). *Rev. Farmacognosia / Farmacologia*
- Chasquibol, N., Lengua, L., Delmas, I., Rivera, D., Bazan, D., Aguirre, R. & Bravo, M. (2003). Alimentos funcionales o fitoquímicas, clasificación e importancia. *Departamento de Química Analítica, Facultad de Química e Ingeniería Química - Universidad Mayor de San Marcos. Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* Vol. 5 N. 0 2, 2003. Págs. 9-20
- CLSI, National Committee for Clinical and Laboratory Standards. (2013). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; *Twenty –Third Informational*; 33(1).
- Condorhuaman, M., Arroyo J., Herrera O. & Rojas L. (2014). Efecto del extracto etanólico de *Calceolaria myriophylla* “zapatilla” sobre el modelo del síndrome metabólico inducido por fructosa en ratas. *Ciencia e Investigación.* Vol. 17 (2): 98-101.
- Condori, R. E. y Vilca C.D. (2005). Sistemática de fanerógamas. Biología Ciudad universitaria, Puno- Perú.
- Duarte, A. Márquez, A., Araujo, C. & Pérez, C. (2009). Modalidades de la prueba del tubo germinal. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 29(1).



- Enciso, M. (2015). *Estudio fitoquímico y determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las flores de Calceolaria rhaccodes Krazi "calceolaria"* [Tesis de Químico Farmacéutico, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Wiener. Lima – Perú]. <https://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/286/ENCISO%20CHINCHA.pdf?sequence=3&isAllowed=y>.
- Fernández Bao, S. (2020). *Diseño de experimentos: Diseño factorial* [Master's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya]. https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/339723/TFM_Fernandez_Bao_Sheila.pdf?se#:~:text=Diseños%20anidados,todos%20los%20niveles%20de%20otros.
- Flores Mendizabal, Milene (2024). *Fitoquímica cualitativa y actividad antibacteriana sobre Escherichia coli de aceites esenciales y extractos etanólicos de Bixa orellana L. (achiote) colectados en el distrito de San Pedro de Putina Punco, Puno - 2022* [tesis de grado, Universidad Nacional del Altiplano]. <https://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/22095>
- Garbarino, J. A., Chamy, M. C., & Piovano, M. (2000). Chemistry of the Calceolaria genus. Structural and biological aspects. *Molecules*, 5(3), 302-303. DOI: 10.3390/50300302
- Geraldi, A., Wardana, A. P., Aminah, N. S., Kristanti, A. N., Sadila, A. Y., Wijaya, N. H., Wijaya, M. R. A., Diningrum, N. I. D., Hajar, V. R., & Manuhara, Y. S. W. (2022). Tropical medicinal plant extracts from Indonesia as antifungal agents against candida albicans. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 27(9), 274. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2709274>
- Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Ámbito Farmacéutico – Nutrición*. 23 (6).
- Gregori, V. B. S. (2005). Estructura y actividad de los antifúngicos. *Rev Cubana Farm* 39(2)



- Guallpa, K. M., Santana, K. O., Chamba, S. F., Andrade, D.S.M., Calderón, A..D.E., Medina, S.P. (2024). Eficacia de desinfectantes naturales contra *Candida albicans* en prótesis dental parcial y total. *KIRU* 21(8:84-90) DOI: <https://doi.org/10.24265/kiru.2024.v21n2.06>
- Guzmán, M.H., Diaz, H.R., Gonzales, C.M. (2017). Plantas Medicinales La realidad de una tradición ancestral. *Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarias.* (5) https://vun.inifap.gob.mx/VUN_MEDIA/BibliotecaWeb/_media/_folletoinformativo/1044_4729_Plantas_medicinales_la_realidad_de_una_tradici%C3%B3n_ancestral.pdf
- Hall, D., Bonifas, R., Stapert, L., Thwaites, M., Shinabarger, D. L., & Pillar, C. M. (2017). In vitro potency and fungicidal activity of CD101, a novel echinocandin, against recent clinical isolates of *Candida* spp. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 89(3), 205-211.
- Horna, Q. G., Silva, D. M., Vicente, T. W., Tamariz, O. J. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacino en bacterias uropatógenas aisladas del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Revista Medica Herediana* 16(1) P. 39- 45
- Huamani, A. M. E. & Ruiz Q. J. R. (2005). *Determinacion de la actividad antifúngica contra Candida albicans y Aspergillus niger de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Peru.* [Tesis de Quimico Farmaceutico, E. A. P. de Farmacia y Bioquimica, Facultad de Farmacia y Bioquimica, Universidad Nacional del Altiplano]. https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880033/determinacion-de-la-actividad-antifungica-contra-candida-albica_X89AK3e.pdf
- Huamaní, M. & 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]. Lima – Perú. 78 p.



https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880033/determinacion-de-la-actividad-antifungica-contra-candida-albica_X89AK3e.pdf.

Instituto Nacional de Salud (2007). *Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas*. S.N.T.(44)

https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD_PUBLICA/NOR_TEC/44.pdf

Kasay, M., Huamán J. & Guerrero M. (2013). Estudio cualitativo y cuantitativo de taninos de la *Oenothera rosea* L'Hér. Ex Aiton. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* 16 (1): 13-19.

Kennedy, D. (2019). Plant-derived phytochemicals to enhance cognitive function and alertness. *Sports Science Exchange*.29 (193), 1-5,

Latti P, Ramanarayanan S, Prashant GM. Antifungal Efficacy of Spice Extracts against *Candida albicans*: An in vitro study. *Indian J Community Med.* 2019 Oct;44(Suppl 1):S77-S80. doi: 10.4103/ijcm.IJCM_140_19. PMID: 31728098; PMCID: PMC6824162.

Leiva González, Segundo, Rimarachín Cayatopa, Victoria, & Rodríguez Rodríguez, Eric F. (2018). Diversidad del género *Calceolaria* L. (*Calceolariaceae*) en el distrito Salpo, provincia Otuzco, región La Libertad y una nueva especie del norte del Perú. *Arnaldoa*, 25(2), 365-450. DOI:10.22497/arnaldoa.252.25205

Lobatón, F., Mendoza, J. & Silva, S. (2020) Identificación cualitativa en materiales vegetales. *Laboratorio de Farmacología y Fitoquímica*. 1

López, C., Sánchez M., Arrieta D. & Román J. (2010). Estudio preliminar fitoquímico y de la actividad antimicrobiana de *Salvia amarissima* Ort. *Rev. Ciencia y Tecnología*. 9 (9): 67-76.

López, K., Dzul, K., Lugo C., Arias J. & Zavala J. (2016). Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. *Rev. Biomed.* 27(1). 127-136. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2016/bio163e.pdf>.



- Machaca Ccacca, Shumara (2024). *Inhibición bacteriana con extractos etanólicos y aceites esenciales de hojas de Artemisia absinthium (Ajenjo) sobre cepas de Neisseria gonorrhoeae aisladas en el centro de referencia de infecciones de transmisión sexual de la Red de San Román, 2024* [Tesis de grado, Universidad Nacional del Altiplano]. [Inhibición bacteriana con extractos etanólicos y aceites esenciales de hojas de Artemisia absinthium \(Ajenjo\) sobre cepas de Neisseria gonorrhoeae aisladas en el centro de referencia de infecciones de transmisión sexual de la Red de San Román, 2024](#)
- Mantilla, F.Y.F., Tuta, Q.E., Brito, R.A.J., Clavijo, M.L.C. (2021). Candidiasis y Candida albicans. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*. LXI (3) <https://doi.org/10.52808/bmsa.7e5.613.003>
- Marcano, D. (2018). Fitoquímica orgánica. *Masahisa Hasegawa – Caracas: U.C.V. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 2002.* <http://saber.ucv.ve/omp/index.php/editorialucv/catalog/download/18/10/56-1?inline=1>
- Mattei, A. S., Alves, S. H., Severo, C. B., Guazzelli, L. S., Oliveira, F. M., Severo, L.C. Use of Mueller- Hinton broth and agar in the germ tub test. *Rev Inst Mep Trop Sao Paulo* 56(6): 483-5 DOI: [10.1590/S0036-46652014000600005](https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000600005)
- Meccatti, VM, Santos, LF, de Carvalho, LS, Souza, CB, Carvalho, CAT, Marcucci, MC, Abu Hasna, A. y de Oliveira, LD (2023). Acción antifúngica de los extractos glicólicos de plantas herbarias contra especies de *Candida*. *Moléculas*, 28 (6), 2857. <https://doi.org/10.3390/molecules28062857>
- Medina, M. (1997). Estudio Fitoquímico de Ephedra americana H. & B [Tesis para optar el título profesional de Biólogo, Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa].
- Mejarrez, R., Frontana B. y Cárdenas J. (2003). Estudio fitoquímico de Salvia uruapana. *Revista de la Sociedad Química de México*. Vol. 47 (2): 207-209. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rsqm/v47n2/v47n2a22.pdf>.
- Mesa, A. A. C.; Bueno, S. J.G.& Betancur, G. L.A. (2004). Productos naturales con actividad antimicótica. *Rev Esp Quimioterap* 17(4) 325 – 331



- Mestanza, K. & Vásquez E. (2018). *Efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso de Allium sativum L. (ajo) frente a cepas de Candida albicans resistente a la nistatina obtenidas del Hospital Regional Docente Las Mercedes* [Tesis de Licenciado en Biología – Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo]. <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/3023/BC-TES-TMP-1842.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- MINSA, Ministerio de Salud del Perú. (2017). Boletín epidemiológico del Perú. 26(1) Semana epidemiológica 35. Lima - Perú. <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2017/35.pdf>.
- Molau, U. (1981). The genus *Calceolaria* in NW South America VIII. The section *Calceolaria* and appendices to parts I–VIII. *Nordic Journal of Botany*, 1(5), 595-615. DOI:[10.1111/J.1756-1051.1981.TB01419](https://doi.org/10.1111/J.1756-1051.1981.TB01419).
- Mostajo, M., De La Torre F. & Tito R. (2021). Metabolitos secundarios y actividad bactericida de *Calceolaria scapiflora* (*Calceolariaceae*) y Semillas de *Persea americana* (*Lauraceae*). *Revista Cantua*. 17(1) 36-42. DOI:[10.51343/cantu.v17i0.758](https://doi.org/10.51343/cantu.v17i0.758).
- Muthular, M., Passero, P., Bálamo, F., Jewtuchowicz, V., Miozza, V., Brusca, M. I., & Pérez, C. (2019). Efecto inhibitorio del dietilestilbestrol sobre aislamientos clínicos de *Candida albicans* sensibles y resistentes a los azoles. *Revista Iberoamericana de Micología*, 36(3), 115-119. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2019.03.001>
- Neyra, L. & Armas N. (2018). *Evaluación in vitro de la actividad fungicida y fungistática del extracto metanólico de la Minthostachys mollis (Muña) sobre cepa de Candida albicans ATCC®1023*. [Tesis de Cirujano Dentista. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas]. https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/625175/Neyra_EL.pdf?sequence=5&isAllowed=y.



- Ñontol, L. & Portal S. (2020). *Actividad antimicótica in vitro del extracto hidroalcohólico de los tres colores de flor de Tropeaolum majus L. "Mastuerzo" en cepas de Candida albicans* [Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo].
- Ortega, T., Carretero E. & Villar A. (2002). Salvia. Fitoquímica, farmacología y terapéutica. *Revista Fitofarmacia*. Vol. 16 (7): 60-63.
<file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/13034818.pdf>.
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2),68-81.[fecha de Consulta 8 de Abril de 2023]. ISSN: 0250-5460. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339682006>
- Picazo, J. J. (2000). *Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
- Pozo, A. B. & Salazar, D. C. (2017). *Reacción, reactividad, y reconocimiento de fenoles*. Laboratorio de química organica II. Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales, Matemáticas y del Medio Ambiente, Universidad Tecnológica Metropolitana.
- Quispe, K. (2020). *Efecto antimicótico in vitro del extracto de la cúrcuma (Curcuma longa) frente a la cepa de Candida albicans*. [Tesis de Licenciado en Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano].
http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/14315/Quispe_Mamani_Karin_Fabiola.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Reina, F. D., Roche, L. A., Bianchi, M. A., Languasco, J. M., Rocca, P. D. (2016). Análisis químico de las especias: tomillo y salvia. *Proyecciones- publicación de investigación y posgrado de la Facultad Regional Buenos Aires* 14(1)



https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/74901/Documento_completo.pdf?sequence=1

- Rengifo, P. R. A. (2013). Cuantificación de flavonoides en el extracto etanólico de propóleos. *Revista Pharmaiencia* 1(2)
<https://core.ac.uk/download/pdf/267888059.pdf>
- Reyes, D. & Fernández R. (2013). Efecto biocida in vitro del extracto foliar de *Azadirachta indica* en *Staphylococcus* sp y *Pseudomonas* sp. *Rev Salus*. 17 (3): 34-41.
- Reyes, D., & Fernández R. (2014). Actividad antimicrobiana in vitro del extracto foliar de zabila (*Aloe vera* L.) en microorganismos de interés clínico. *Salus Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo*. 18 (3): 27-32.
<http://ve.scielo.org/pdf/s/v18n3/art06.pdf>.
- Rodriguez, M.C. & Zhurbenko R. (2018), *Manual de medios de cultivo*. (4)
<https://www.biocen.cu/wp-content/uploads/2021/05/Manual-MC-2018.pdf>
- Ruiz, Q. J. R. (2013). *Actividad antifúngica in vitro y concentración mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho plantas medicinales*. [Tesis para Magister en Microbiología, Unidad de Post – Grado, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]
- Salvatierra, C. P., Ignacio, P. C., Jaramillo, B. M., Flores, C. D., Guillén, G. C., & Villalobos, P. E. (2023). Actividad antinociceptiva del extracto de *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling “pacha salvia” en un modelo de dolor agudo inducido en ratones. *Revista Internacional de Salud Materno Fetal*, 8(4), 018–024.
<https://doi.org/10.47784/rismf.2023.8.4.332>
- Saravia N. & Guillinta G. (2012). Actividad antifúngica del extracto de etanol *Schinus molle* y el fluconazol sobre *Candida albicans*. *Revista Kiru*. Vol. 9 (1): 39 – 41.
- Serrano, C. A., Villena, G. K., & Rodríguez, E. F. (2021). Phytochemical profile and rosmarinic acid purification from two Peruvian *Lepechinia* Willd. species



- (Salviinae, Mentheae, Lamiaceae). *Scientific Reports*, 11(1), 7260.
DOI:[10.1038/s41598-021-86692-3](https://doi.org/10.1038/s41598-021-86692-3)
- Sierra, R., González V., Marrero D., Rodríguez E. (2011). Análisis fitoquímico de la *Salvia coccinea* que crece en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. Vol. 16 (1): 54-59. <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v16n1/pla06111.pdf>.
- Tapia, C. (2012). Antifúngicos y resistencia. *Revista chilena de infectología*, 29(3), 357.
DOI:[10.4067/S0716-10182012000300020](https://doi.org/10.4067/S0716-10182012000300020)
- Torres, J. (2014). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de Luma chequen (molina) a. gray "arrayán" frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima – Perú* [Tesis de Biólogo Microbiólogo Parasitólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos].https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3605/Torres_cj.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Urcuhuaranga, B. L.E. (2011). *Actividad anti Candida del extracto hidroalcohólico de las hojas de Lepechinia meyenii (Wap) Epi. "pacha salvia". Ayacucho – 2011*. [Tesis de Químico Farmacéutico, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga].
<https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/b4cd4719-ae06-42f2-9f23-8c356aee11c1/content>
- Vallejos Campos, Elmer Cesar (2017). *Efecto antifúngico in vitro del extracto acuoso de Rosmarinus officinalis "romero" contra Candida albicans*. [Tesis de Cirujano Dentista, Escuela Profesional de Estomatología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Señor de Sipán].
<https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/4086/Vallejos%20Campos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>



- Vargas, M. J. J. (2024). El reactivo de Dragendorff: origen historia e importancia. *Revista medica Basadrina*, 18(1):52-57. DOI: <https://orcid.org/10.33326/26176068.2024.1.2104>
- Verde, S.M.J., García, G. S., & Rivas, M. C. (2016). Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. *Laboratorio Química Analítica y Productos Naturales, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México*. <https://dx.doi.org/10.3926/oms.335>
- Wen, Louise, Haddad, Mohamed, Fernández, Irma, Espinoza, Giovana, Ruiz, Candy, Neyra, Edgar, Bustamante, Beatriz, & Rojas, Rosario. (2011). Actividad antifúngica de cuatro plantas usadas en la medicina tradicional peruana: aislamiento de 3'- formil - 2',4',6' - trihidroxidihidrochalcona, principio activo de *Psidium acutangulum*. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 77(3), 199-204. Recuperado en 16 de diciembre de 2024, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2011000300005&lng=es&tlng=es.
- Zapata, E. (2017). *Determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica “in vitro” del extracto hidro-alcohólico de Cestrum hediondinum Dun. “Hierba Santa” en bacterias patógenas Gram negativas, Gram positivas y hongos* [Tesis de Biólogo, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4531/Bizamie.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Zurita, S. (2018). Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 35(1): 126-31. DOI:10.17843/rpmpesp.2018.351.3563.

ANEXOS

ANEXO 1. Galería Fotográfica

Figura 1

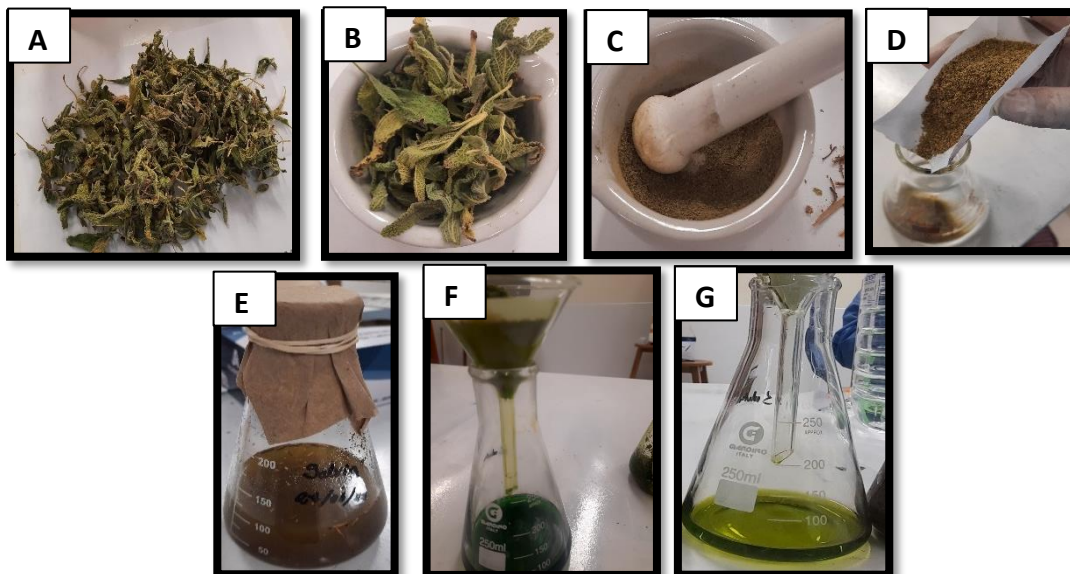
Muestras herbarias adquiridas en puestos de venta de la ciudad de Juliaca



A. Muestras de hojas, tallos y plantas de Salvia (*Lepechinia meyenii*), B. Muestras de hojas, tallos y flores de Amayzapato (*Calceolaria spp.*).

Figura 2

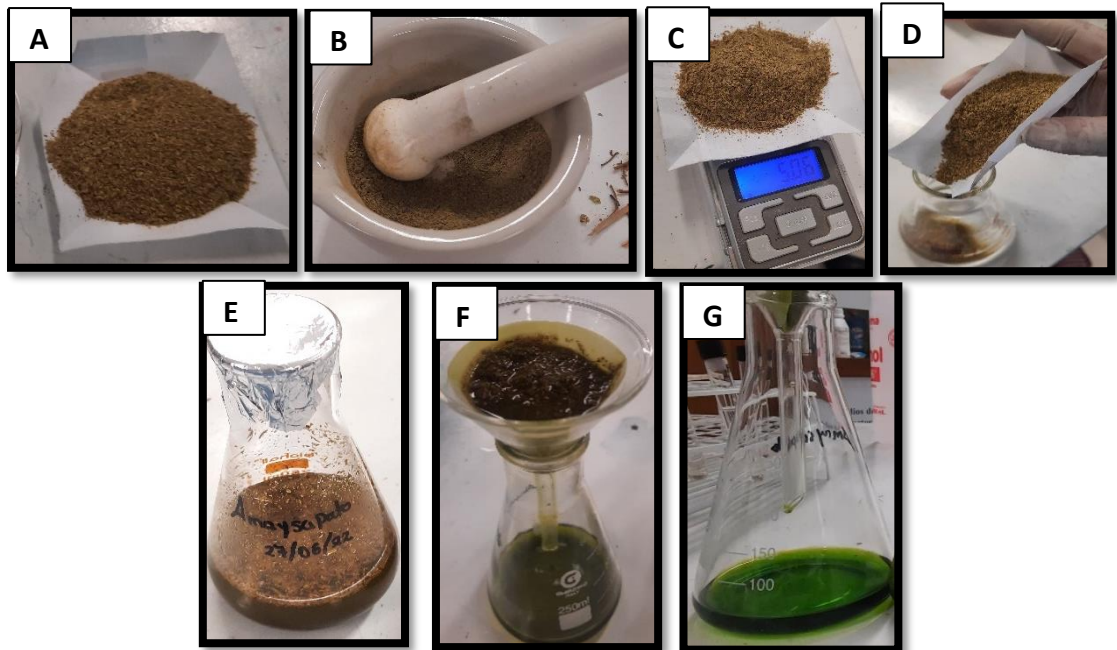
Preparación de Extractos Etanólicos de Salvia (Lepechinia meyenii)



A. Secado de hojas de Salvia (*Lepechinia meyenii*), B. y C. Molido de hojas en mortero, D. Inclusión de la salvia molida en Alcohol a 96°, E. Reposo del preparado durante 24 horas, F. Filtrado del Extracto etanólico, G. Extracto etanólico de Salvia (*Lepechinia meyenii*) listo para trabajar.

Figura 3

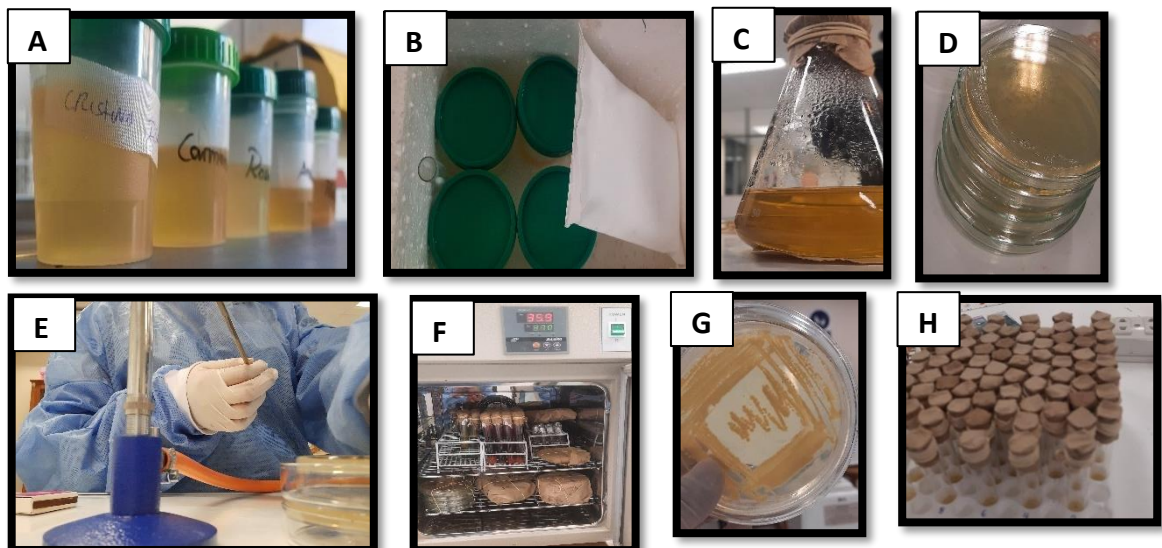
Preparación de Extractos Etanólicos de Amaysapato (Calceolaria spp).



A. Secado de hojas de Amaysapato (*Calceolaria spp*), B. y C. Molido de hojas en mortero, D. Inclusión del amaysapato molida en Alcohol a 96°, E. Reposo del preparado durante 24 horas, F. Filtrado del Extracto etanólico, G. Extracto etanólico de amaysapato (*Calceolaria spp*) listo para trabajar.

Figura 4

Preparación de Cultivos de Candida albicans.



A. Muestras positivas de orina para *Candida*, B. Transporte de muestras al laboratorio, C. y D. Preparación de Agar Sabouraud, E. Cultivo de las muestras de Orina sobre Agar Sabouraud, F. Incubación de los cultivos por 48 horas, G. Observación luego de las 48 horas. H. Prueba del tubo germinativo.

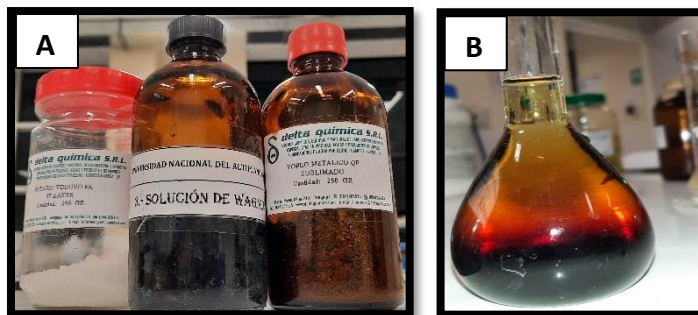
Figura 5

Preparación de reactivos para análisis fitoquímico: Reactivo de Dragendorff



Figura 6

Preparación de reactivos para análisis fitoquímico; Solución Wagner.



A. Materiales para la preparación del reactivo, B. Reactivo listo para ser usado.

Figura 7

Preparación de reactivos para análisis fitoquímico; Solución FeCl3 5%.



A. Materiales para la preparación del reactivo, B. Reactivo listo para ser usado.

Figura 8

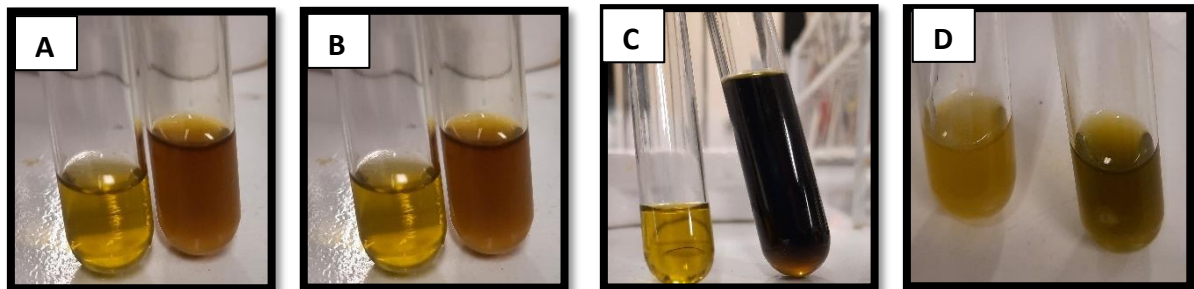
Preparación de reactivos para análisis fitoquímico; Solución de gelatina cloruro al 5%.



A. Materiales para la preparación del reactivo, B. Reactivo listo para ser usado.

Figura 9

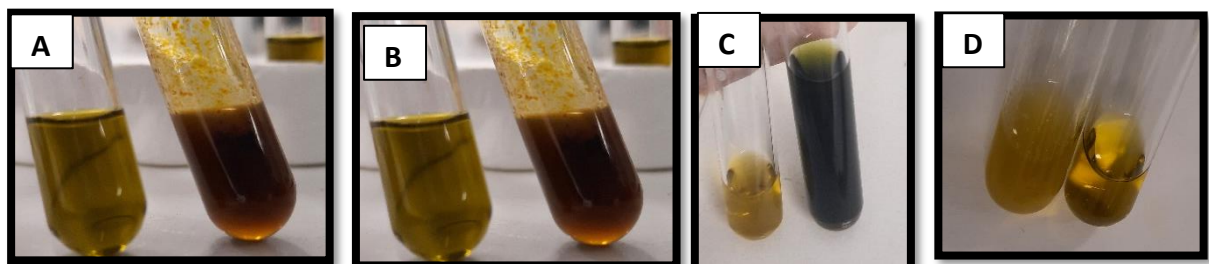
Resultados del análisis Fitoquímico de Salvia (Lepechinia meyenii).



A. Identificación de Flavonoides (+), B. Identificación de alcaloides (++), C. Identificación de fenoles (+++), D. Identificación de taninos (+).

Figura 10

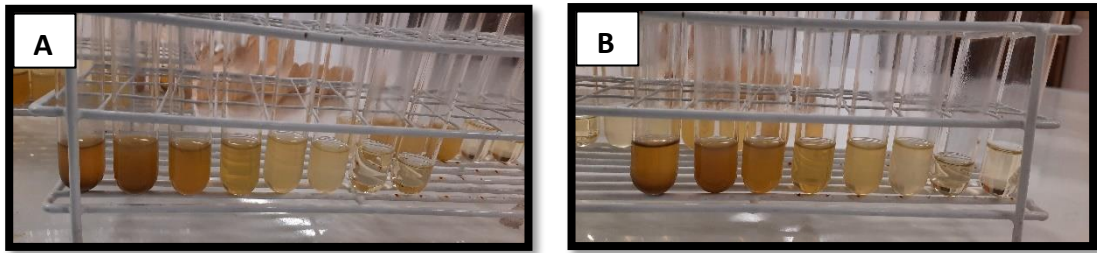
Resultados del análisis fitoquímico de Amayzapato (Calceolaria spp)



A. Identificación de Flavonoides (++), B. Identificación de alcaloides (+), C. Identificación de fenoles (+++), D. Identificación de taninos (+).

Figura 11

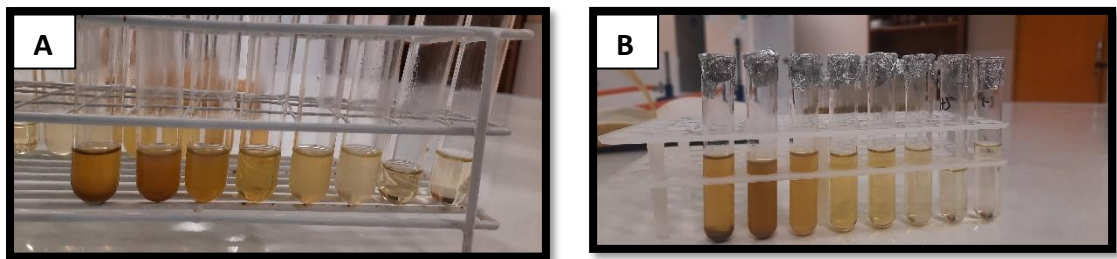
Resultados de CMI de Salvia (Lepechinia meyenii)



A. y B. Lectura de los resultados obtenidos donde se observa que hasta el 10% esta turbio.

Figura 12

Resultados de CMI de Amaysapato (Calceolaria spp)



A. y B. Lectura de los resultados obtenidos donde se observa que hasta el 10% esta turbio.

Figura 13

Resultados de CMF de Salvia (Lepechinia Meyenii) frente a Candida albicans



Figura 14

Resultados de CMF de Amayzapato (Calceolaria spp) frente a Candida albicans.





ANEXO 2. Constancia del análisis de laboratorio



Universidad Nacional del Altiplano de Puno

Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Biología
Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico
Laboratorio de Botánica y Biotecnología



Registro: 010-2022

CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, **DOCENTE RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE BOTÁNICA Y BIOTECNOLOGÍA** DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO – PERÚ.

HACE CONSTAR:

Que el (la) Bachiller **YESSICA ARCA YA CANDIA**, egresado (a) de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, ha realizado la parte experimental de su trabajo de investigación (Tesis) titulado: **FITOQUÍMICA CUALITATIVA Y EFECTO ANTIMICÓTICO *IN VITRO* DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Lepechinia meyenii* Y *Calceolaria spp* SOBRE *Candida albicans***, en el laboratorio de Botánica y Biotecnología, del Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico de la Escuela Profesional de Biología, entre los meses de agosto a octubre del año 2022.

Se le expide la presente Constancia a solicitud del (a) interesado (a) para los fines que se estime por conveniente.

Puno, 14 de octubre del 2022.

JUAN JOSÉ PAURO ROQUE, Dr. Sc.
Responsable del Laboratorio de Botánica y Biotecnología
FCCBB – UNA Puno

ANEXO 3.Base de datos

Resultados obtenidos de CMI para *Lepechinia meyenii*

Muestra	Especie	Repetición	Concentración (%)	Tipo
1	<i>Lepechinia meyenii</i>	1	10	CMI
1	<i>Lepechinia meyenii</i>	2	10	CMI
1	<i>Lepechinia meyenii</i>	3	10	CMI
1	<i>Lepechinia meyenii</i>	4	10	CMI
1	<i>Lepechinia meyenii</i>	5	10	CMI
2	<i>Lepechinia meyenii</i>	1	5	CMI
2	<i>Lepechinia meyenii</i>	2	10	CMI
2	<i>Lepechinia meyenii</i>	3	10	CMI
2	<i>Lepechinia meyenii</i>	4	10	CMI
2	<i>Lepechinia meyenii</i>	5	10	CMI
3	<i>Lepechinia meyenii</i>	1	10	CMI
3	<i>Lepechinia meyenii</i>	2	10	CMI
3	<i>Lepechinia meyenii</i>	3	10	CMI
3	<i>Lepechinia meyenii</i>	4	10	CMI
3	<i>Lepechinia meyenii</i>	5	10	CMI
4	<i>Lepechinia meyenii</i>	1	10	CMI
4	<i>Lepechinia meyenii</i>	2	10	CMI
4	<i>Lepechinia meyenii</i>	3	5	CMI
4	<i>Lepechinia meyenii</i>	4	10	CMI
4	<i>Lepechinia meyenii</i>	5	10	CMI
5	<i>Lepechinia meyenii</i>	1	5	CMI
5	<i>Lepechinia meyenii</i>	2	10	CMI
5	<i>Lepechinia meyenii</i>	3	10	CMI
5	<i>Lepechinia meyenii</i>	4	10	CMI
5	<i>Lepechinia meyenii</i>	5	10	CMI
6	<i>Lepechinia meyenii</i>	1	10	CMI
6	<i>Lepechinia meyenii</i>	2	10	CMI
6	<i>Lepechinia meyenii</i>	3	10	CMI
6	<i>Lepechinia meyenii</i>	4	10	CMI
6	<i>Lepechinia meyenii</i>	5	10	CMI
7	<i>Lepechinia meyenii</i>	1	10	CMI
7	<i>Lepechinia meyenii</i>	2	10	CMI
7	<i>Lepechinia meyenii</i>	3	10	CMI
7	<i>Lepechinia meyenii</i>	4	10	CMI
7	<i>Lepechinia meyenii</i>	5	5	CMI



8	<i>Lepechinia meyenii</i>	1	10	CMI
8	<i>Lepechinia meyenii</i>	2	10	CMI
8	<i>Lepechinia meyenii</i>	3	10	CMI
8	<i>Lepechinia meyenii</i>	4	10	CMI
8	<i>Lepechinia meyenii</i>	5	10	CMI
9	<i>Lepechinia meyenii</i>	1	10	CMI
9	<i>Lepechinia meyenii</i>	2	10	CMI
9	<i>Lepechinia meyenii</i>	3	10	CMI
9	<i>Lepechinia meyenii</i>	4	5	CMI
9	<i>Lepechinia meyenii</i>	5	10	CMI
10	<i>Lepechinia meyenii</i>	1	10	CMI
10	<i>Lepechinia meyenii</i>	2	10	CMI
10	<i>Lepechinia meyenii</i>	3	10	CMI
10	<i>Lepechinia meyenii</i>	4	10	CMI
10	<i>Lepechinia meyenii</i>	5	10	CMI

Resultados obtenidos de CMI para *Calceolaria spp*

Muestra	Especie	Repetición	Concentración (%)	Tipo
1	<i>Calceolaria spp</i>	1	10	CMI
1	<i>Calceolaria spp</i>	2	10	CMI
1	<i>Calceolaria spp</i>	3	10	CMI
1	<i>Calceolaria spp</i>	4	5	CMI
1	<i>Calceolaria spp</i>	5	10	CMI
2	<i>Calceolaria spp</i>	1	10	CMI
2	<i>Calceolaria spp</i>	2	5	CMI
2	<i>Calceolaria spp</i>	3	10	CMI
2	<i>Calceolaria spp</i>	4	10	CMI
2	<i>Calceolaria spp</i>	5	10	CMI
3	<i>Calceolaria spp</i>	1	5	CMI
3	<i>Calceolaria spp</i>	2	10	CMI
3	<i>Calceolaria spp</i>	3	10	CMI
3	<i>Calceolaria spp</i>	4	10	CMI
3	<i>Calceolaria spp</i>	5	10	CMI
4	<i>Calceolaria spp</i>	1	10	CMI
4	<i>Calceolaria spp</i>	2	10	CMI
4	<i>Calceolaria spp</i>	3	10	CMI
4	<i>Calceolaria spp</i>	4	10	CMI
4	<i>Calceolaria spp</i>	5	10	CMI
5	<i>Calceolaria spp</i>	1	10	CMI
5	<i>Calceolaria spp</i>	2	10	CMI
5	<i>Calceolaria spp</i>	3	10	CMI



5	<i>Calceolaria spp</i>	4	10	CMI
5	<i>Calceolaria spp</i>	5	5	CMI
6	<i>Calceolaria spp</i>	1	10	CMI
6	<i>Calceolaria spp</i>	2	10	CMI
6	<i>Calceolaria spp</i>	3	10	CMI
6	<i>Calceolaria spp</i>	4	5	CMI
6	<i>Calceolaria spp</i>	5	10	CMI
7	<i>Calceolaria spp</i>	1	10	CMI
7	<i>Calceolaria spp</i>	2	10	CMI
7	<i>Calceolaria spp</i>	3	10	CMI
7	<i>Calceolaria spp</i>	4	10	CMI
7	<i>Calceolaria spp</i>	5	10	CMI
8	<i>Calceolaria spp</i>	1	10	CMI
8	<i>Calceolaria spp</i>	2	10	CMI
8	<i>Calceolaria spp</i>	3	5	CMI
8	<i>Calceolaria spp</i>	4	10	CMI
8	<i>Calceolaria spp</i>	5	10	CMI
9	<i>Calceolaria spp</i>	1	10	CMI
9	<i>Calceolaria spp</i>	2	10	CMI
9	<i>Calceolaria spp</i>	3	10	CMI
9	<i>Calceolaria spp</i>	4	10	CMI
9	<i>Calceolaria spp</i>	5	10	CMI
10	<i>Calceolaria spp</i>	1	10	CMI
10	<i>Calceolaria spp</i>	2	5	CMI
10	<i>Calceolaria spp</i>	3	10	CMI
10	<i>Calceolaria spp</i>	4	10	CMI
10	<i>Calceolaria spp</i>	5	10	CMI



ANEXO 4. Resultados del medio del conteo de UFC/ml

EXTRACTO ETANÓLICO <i>Lepechinia meyenii</i>							
MUESTRA	CRECIMIENTO MICROBIANO DE <i>Candida albicans</i> en UFC						
	REPETICIONES	5%	10%	20%	40%	80%	100%
1	1	>1000	>1000	<500	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	<500	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
2	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	<500	-	-	-
3	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
4	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	<500	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
5	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	<500	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
6	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	<500	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
7	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
8	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	<500	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
9	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	<500	-	-	-
10	1	>1000	>1000	-	-	-	-



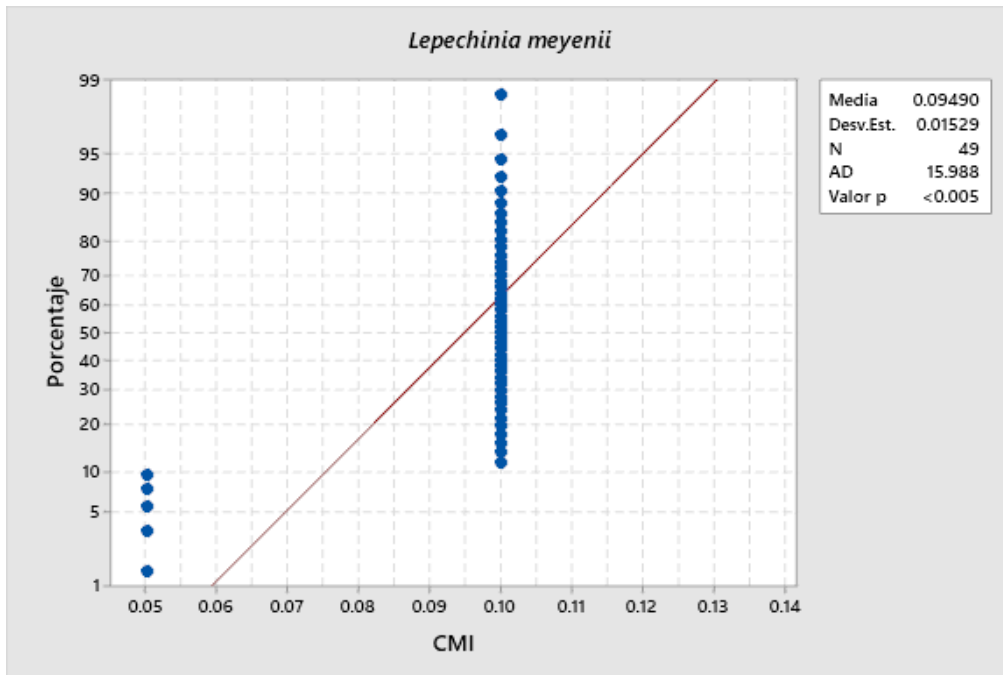
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-

EXTRACTO ETANÓLICO <i>Calceolaria spp</i>							
MUESTRA	CRECIMIENTO MICROBIANO DE <i>Candida albicans</i> en UFC						
	REPETICIONES	5%	10%	20%	40%	80%	100%
1	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	<500	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
2	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	<500	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
3	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	<500	-	-	-
4	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
5	1	>1000	>1000	<500	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
6	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	<500	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
7	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	<500	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
8	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	<500	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-
9	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-

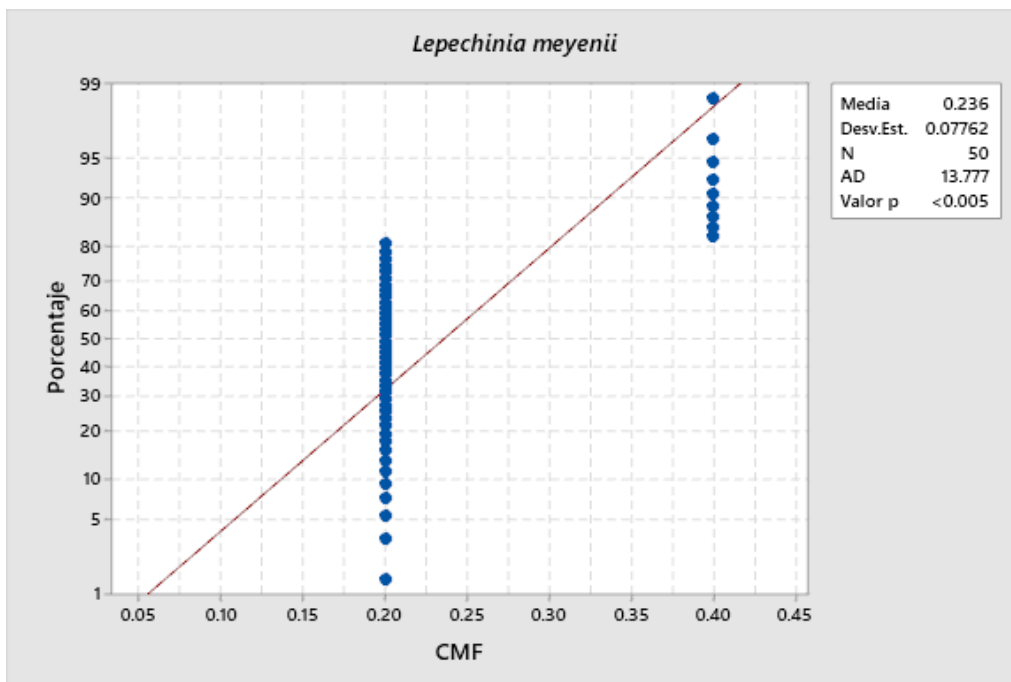


	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	-	-	-	-
	5	>1000	>1000	<500	-	-	-
10	1	>1000	>1000	-	-	-	-
	2	>1000	>1000	-	-	-	-
	3	>1000	>1000	-	-	-	-
	4	>1000	>1000	<500	-	-	-
	5	>1000	>1000	-	-	-	-

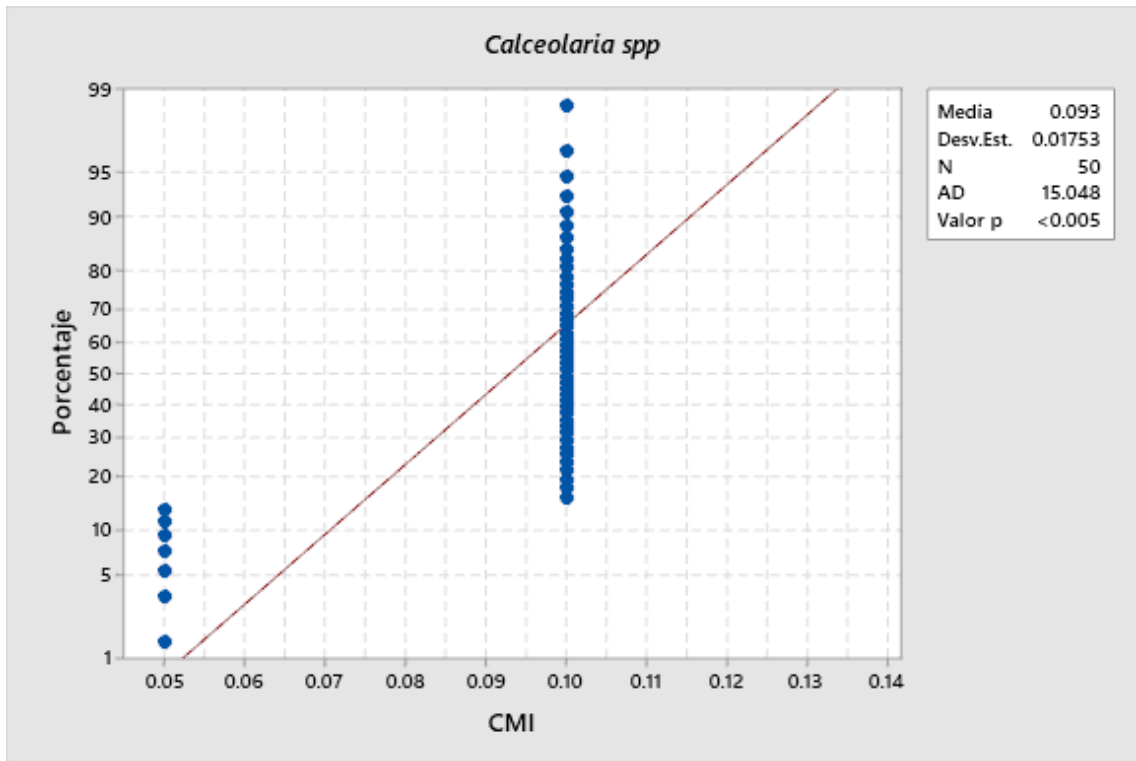
ANEXO 5. Pruebas de normalidad



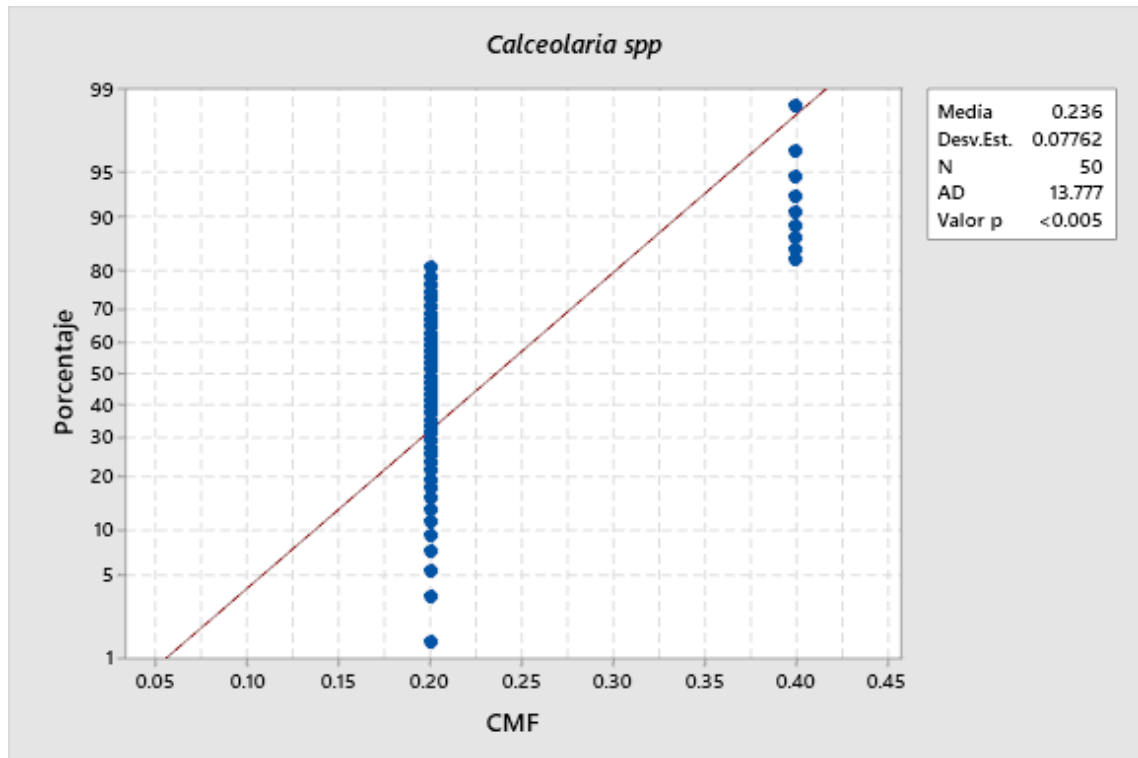
Si el valor p es mayor que 0.05 se considera que la CMI de *Lepechinia meyenii* es normal, como es menor no cumple con la normalidad



Si el valor p es mayor que 0.05 se considera que la CMF de *Lepetchinia meyenii* es normal, como es menor no cumple con la normalidad



Si el valor p es mayor que 0.05 se considera que la CMI de *Calceolaria spp* es normal, como es menor no cumple con la normalidad



Si el valor p es mayor que 0.05 se considera que la CMF de *Calceolaria spp* es normal, como es menor no cumple con la normalidad



**AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE
INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL**

Por el presente documento, Yo Yessica Arcaya Candia
identificado con DNI 75900992 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

DE BIOLOGÍA
informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

"FITOQUÍMICA CUALITATIVA Y EFECTO ANTIMICÓTICO in vitro DE
EXTRACTOS ETANÓLICOS DE Lepedinia meyerii y Calceolaria spp SOBRE
Candida albicans."

para la obtención de Grado, Título Profesional o Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.


En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 17 de Diciembre del 2024


FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Yessica Arcaya Candia,
identificado con DNI 75900992 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

DE BIOLOGÍA

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

" FITOQUÍMICA CUDITATIVA Y EFECTO ANTIFILÓTICO in vitro DE
EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Lepedonia meyerii* Y *Calceolaria spp*
SOBRE *Candida albicans* "

Es un tema original.


Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 17 de Diciembre del 2024


FIRMA (obligatoria)



Huella