



Universidad Nacional

SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0>

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

**ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
Senecio nutans “CHACHACOMA”.**

AUTOR:

TRILLO CHAVEZ YUDITH CELIA

ICA - PERÚ

2021

DEDICATORIA

A Dios, por darme salud y la fuerza necesaria para cumplir mis metas y objetivos.

A mis padres y hermano, que siempre me alentaron a seguir adelante y no bajar los brazos.

A mi abuelita por guiarme y cuidarme desde el cielo, que siempre estará en mi corazón.

AGRADECIMIENTO

A la universidad San Luis Gonzaga, por haberme permitido formarme estos años en sus aulas y por los conocimientos brindados desde el inicio de la carrera universitaria.

A mis asesores, quienes con sus conocimientos, me guiaron y apoyaron durante cada etapa de la elaboración de la tesis.

A todos los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica que me enseñaron tanto de la profesión como de la vida.

A mi familia por su inmenso esfuerzo y amor incondicional, que estuvieron en todo momento con sus consejos y guía.

ÍNDICE

	Pág.
PORTADA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE	iv
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUCCIÓN	viii
CAPÍTULO I. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	10
1.1. Descripción de la realidad problemática	10
1.2. Formulación del problema	11
1.2.1 Problema General	11
1.2.2 Problemas Específicos	11
1.2.3 Aspectos a considerar	11
1.3. Justificación e importancia	12
1.4. Objetivos de la investigación	12
1.4.1 Objetivo General	12
1.4.2 Objetivos Específicos	13
1.5. Hipótesis y variables	13
1.5.1 Hipótesis	13
a) Hipótesis General	13
b) Hipótesis Específicas	13
1.5.2 Variables	14
a) Independiente	14
b) Dependiente	14
1.5.3 Operacionalización de variables	14
CAPÍTULO II– BASES TEÓRICAS	15
2.1 Antecedentes de la investigación	15
2.1.1 Antecedentes Nacionales	15
2.1.2 Antecedentes internacionales	17

2.2	Marco teórico	20
2.3	Marco conceptual	24
	CAPÍTULO III – ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS	26
3.1.	Tipo, Nivel y Diseño de la Investigación	26
3.1.1	Tipo de Investigación	26
3.1.2	Nivel de Investigación	26
3.1.3	Diseño de Investigación	26
3.2.	Material de trabajo	27
3.2.1	Material de laboratorio	27
3.2.2	Equipos	28
3.2.3	Reactivos	28
3.2.4	Material biológico	29
3.3.	Población y muestra	29
3.4.	Métodos, técnicas y procedimientos	30
3.4.1	Recolección y tratamiento de la muestra	30
3.4.2	Determinación de grupos funcionales	31
3.4.3	Proceso de evaluación de la actividad antimicótica	35
3.5.	Técnicas de procesamiento de datos	36
3.5.1	Recolección de datos analíticos	36
3.5.1	Procesamiento de datos	36
3.6.	Aspectos éticos	37
	CAPÍTULO IV –RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1.	Resultados	38
4.2	Discusión	42
	CONCLUSIONES	47
	RECOMENDACIONES	48
	FUENTES DE INFORMACIÓN	49
	ANEXOS	54
	Matriz de Consistencia	54
	Fotos	56
	Constancia de muestra vegetal	62

RESUMEN

En el afán de revalorar el uso tradicional de las plantas medicinales, es de suma importancia demostrar la eficacia del empleo y justificar su uso adecuado mediante evidencias científicas que los respalden, en el Perú existen muchas plantas medicinales que bien podrían ser utilizadas como productos de uso alternativo, en este contexto el objetivo del presente estudio fue comprobar la actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “Chachacoma”. En primer lugar se determinó la presencia de metabolitos secundarios por reacciones de precipitación y/o coloración y la actividad antimicótica se realizó por el método de difusión en agar; como resultados se encontraron metabolitos secundarios como lactonas sesquiterpénicas/cumarinas, antraquinonas, esteroides/tripertenos, flavonoides y alcaloides. Se obtuvo una actividad antimicótica frente al *Aspergillus niger* de 70% de inhibición a la concentración de 10 µg/mL y frente a *Candida albicans* un 38% de inhibición a una concentración de 40 µg/mL, concluyendo que la dosis efectiva frente al *A. niger* presenta una alta sensibilidad, mientras que para *C. albicans* la sensibilidad es baja.

Palabras claves: *Senecio nutans*, metabolitos secundarios, actividad antimicótica.

ABSTRACT

In the effort to revalue the traditional use of medicinal plants, it is of utmost importance to demonstrate the effectiveness of the use and justify its proper use through scientific evidence that supports them, in Peru there are many medicinal plants that could well be used as products of use alternatively, in this context the objective of the present study was to verify the antifungal activity of the ethanoic extract of the leaves of *Senecio nutans* “chachacoma”. In the first place, the presence of secondary metabolites was determined by precipitation and/or coloration reactions and the antifungal activity was carried out by the agar diffusion method; as results, sesquiterpenic lactones/coumarins, anthraquinones, steroides/tripernes, flavonoids and alkaloids wer found as secodary metabolites, na antifungal activity was obtained against *Aspegillus niger* of 70 inhibition at a concentration of 10 µg / mL and against *Candida albicans* a 38% inhibition at a concentration of 40 µg / mL, concluding that the effective dose against *A. niger* has a high sensitivity, while for *C. albicans* the sensitivity is low.

Keywords: *Senecio nutans*, secondary metabolites, antifungal activity.

INTRODUCCIÓN

En el Perú siempre hemos podido contar con una amplia variedad de plantas, que han sido utilizadas de forma empírica, por personas cuyos conocimientos han sido transmitidos de generación en generación para curar heridas, dolencias, enfermedades, etc., siendo utilizadas hasta la actualidad.

Es de suma importancia demostrar la eficacia del empleo de las plantas y encontrar su uso adecuado. Son muchos los trabajos que se hacen sobre las plantas que tienen valor terapéutico demostrado en el uso popular y que inclusive en muchos casos tienen mayor eficacia que los compuestos sintetizados y sin reacciones adversas conocidas. Por ello, la industria farmacéutica ha empezado a buscar soluciones en el campo de las plantas medicinales, para buscar alternativas y moléculas para fabricación de medicamentos (Huamani y Ruiz, 2005)¹.

“En los últimos años la incidencia de enfermedades micóticas, el número de pacientes inmunocomprometidos, quimioterapia, nutrición parenteral, cirugía de transplante y el uso de agentes antimicrobianos de amplio espectro ha aumentado significativamente, sumado a la presencia de SIDA, proporcionan "placas petri vivientes" individuales, que son altamente susceptibles a las infecciones oportunistas” (Ruiz, 2013)².

Existen muchas plantas medicinales que bien podrían ser utilizadas como productos de uso alternativo, razón por la cual en los últimos años se está revalorando el uso de las plantas medicinales con fines terapéuticos. En el

afán de mejorar el problema de la salud se pretende contribuir con el presente trabajo “Actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “Chachacoma””, teniendo como objetivo determinar dicha actividad frente a microorganismos como: *Candida albicans* y *Aspergillus niger*, precisamente para respaldar los conocimientos de la etnobotánica y proponer una alternativa de tratamiento natural.

El presente trabajo se desarrolló con el fin de valorar el uso de las plantas medicinales, aportando en la investigación de nuevas fuentes de sustancias con actividad antimicótica de menor costo, que no afecte a la salud, no presentando resistencia, ni efectos adversos.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde hace mucho tiempo atrás y han llegado a ser importantes para el alivio de muchas enfermedades. Las plantas silvestres en la región andina son abundantes, muchas de ellas se utilizan con frecuencia en la medicina tradicional y a pesar que su información no ha sido verificada, porque no se han realizado estudios químicos o biológicos con ellas³. La especie *Senecio nutans*, que crece en las alturas del anexo de Palcca, distrito de Chipao, provincia de Lucanas, departamento de Ayacucho, es utilizada para enfermedades del sistema urinario, del sistema digestivo, mal de altura, heridas, etc.

No se ha podido encontrar estudios de actividad antimicótica de los extractos etanólicos de las hojas de la especie; sin embargo, en la literatura revisada se encontró estudios de actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de la especie de otros lugares de procedencia, frente a diversos microorganismos. En algunos se reportó una efectiva actividad frente a microorganismos gram positivos; mientras que en el caso de microorganismos gram negativos los resultados son contradictorios (Marcos y Mendieta, 2015; Nuñez y Romero, 2015; Vargas, 2018)³⁻⁵. Además, se encontró estudios de actividad antimicótica del extracto etanólico de otras especies del género

Senecio, en estos se reportó una efectiva actividad frente a diversos microorganismos. Queda por determinar el efecto del extracto etanólico de las hojas que es la parte más frecuentemente usada por la población en la forma de infusión.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 Problema General:

- ✓ ¿Presentará actividad antimicótica el extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “chachacoma”?

1.2.2 Problemas Específicos:

- ✓ ¿Qué tipo de metabolitos secundarios presenta el extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “chachacoma”?
- ✓ ¿Presenta el extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “chachacoma” actividad antimicótica frente a *Candida albicans* y *Aspergillus niger*?

1.2.3 Aspectos a considerar:

Siendo el objetivo principal de esta investigación, determinar la actividad antimicótica del extracto etanólico de hojas de *Senecio nutans*, se debe tomar en cuenta que hay una amplia variedad de hongos, y dentro de estos se va trabajar con 2 especies considerando la factibilidad de adquisición; así como algunos antecedentes de uso en la medicina tradicional.

1.3 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

El hombre inicio la búsqueda de compuestos naturales con mayor intensidad, a partir del descubrimiento de la penicilina, para tratar enfermedades infecciosas producidas principalmente por bacterias, hongos y/o virus. Actualmente los hongos están afectando a una gran cantidad de la población, ya que cada vez aparecen más cepas resistentes, por lo que se están buscando alternativas en los productos naturales cuyos efectos adversos son mínimos en comparación con los fármacos. La resistencia a los antimicóticos depende de muchos factores como: los pacientes, los tratamientos de los profesionales sanitarios, los granjeros y los veterinarios (OMS, 2018)⁶.

La necesidad de buscar nuevas opciones para combatir las cepas resistentes a los antimicóticos, nos lleva a que las plantas medicinales sean una buena alternativa, por lo que se pretende contribuir con el desarrollo de este trabajo, siendo la especie *Senecio nutans* utilizada por la población para infecciones en el tracto urinario.

1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1 General

- ✓ Comprobar la actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “Chachacoma”.

1.4.2 Específicos

- ✓ Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico obtenido de las hojas de *Senecio nutans* “chachacoma”.
- ✓ Determinar la concentración efectiva del extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “Chachacoma” frente hongos como: *Candida albicans* y *Aspergillus niger*.

1.5 HIPÓTESIS Y VARIABLES

1.5.1 Hipótesis

- **General:**

El extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “chachacoma” posee actividad antimicótica.

- **Específicas:**

- ✓ Los metabolitos secundarios predominantes en el extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “chachacoma” son flavonoides, alcaloides y terpenos.
- ✓ El extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “chachacoma” posee actividad antimicótica frente a *Candida albicans* y *Aspergillus niger*.

1.5.2 Variables

- **Variable independiente**

Extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans*.
"chachacoma"

- **Variable dependiente**

Actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de
Senecio nutans "chachacoma".

1.5.3 Operacionalización de variables

VARIABLE	INDICADOR	ÍNDICE
Extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> L. "chachacoma"	Metabolitos secundarios	Reacción de coloración y precipitación. Concentración de extracto
Actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> "chachacoma".	Inhibición cepas de hongos	Diámetro de halo de inhibición

CAPÍTULO II

BASES TEÓRICAS

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. Antecedentes nacionales

- Anselmo R, Flores R. 2018. Actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 Y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *in vitro*.

Se evaluaron las características fisicoquímicas del material vegetal seco. Así mismo, se realizó la marcha fitoquímica para examinar cualitativamente la presencia de sus metabolitos secundarios donde se obtuvo: alcaloides, flavonoides, aminoácido, taninos, quinonas, glicosidos, saponinas, compuestos fenólicos, azúcares reductores y esteroides. Posteriormente se evaluó la actividad antimicótica por el método de difusión de agar (Método de Kirby-Bauer). Demostrando que el extracto etanólico vegetal tuvo efecto inhibitorio frente a *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*. Respecto a los halos de inhibición, se logró obtener una sensibilidad límite en concentraciones de 5% y 15%. Mientras que a concentraciones de 30% y 75%, se logró obtener una sensibilidad mayor, donde se evidenció la actividad antimicótica significativa. Puesto que el cultivo de *Candida*

albicans presentó mayor sensibilidad frente al extracto etanólico de concentración 75% con un promedio de 22,01 mm (halo de inhibición) siendo más eficaz en la actividad antimicótica, mientras que, frente al cultivo *Aspergillus brasiliensis* presentó un promedio de 9,96 mm (halo de inhibición), encontrándose una diferencia estadística con $p < 0,05^7$.

- Aparicio R, y col. 2019. Caracterización química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Libanothamnus neriifolius* (Asteraceae).

El aceite esencial de las hojas frescas de *Libanothamnus neriifolius*, fue obtenido por el método de hidrodestilación utilizando la trampa de Clevenger, obteniendo 1,8 mL (rendimiento 0,087%). El aceite esencial se caracterizó por el método de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM), identificando como compuestos principales β -felandreno (29,04%), α -felandreno (19,86%), α -pineno (13,57%) y α -tujeno (12,35%). La actividad antimicrobiana se determinó por el método de difusión en agar con discos, frente a bacterias y levaduras de referencia internacional (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357, *Pseudomonas aureginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* CDC-B385,

Candida krusei ATCC 6258). El aceite esencial inhibió el desarrollo de *S. aureus*, *C. albicans* y *C. Krusei*, con un valor de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de 50 µL/mL, 700 µL/mL y 500 µL/mL, respectivamente. Este es el primer reporte sobre actividad antimicrobiana para *L. neriifolius* y para el género *Libanothamnus*⁸.

2.1.2. Antecedentes Internacionales

- Luján M, Pérez C. 2008. Cribado para evaluar actividad antibacteriana y antimicótica en plantas utilizadas en medicina popular de Argentina.

Se realizó un cribado de 31 extractos de plantas utilizadas en medicina popular de Argentina para evaluar su actividad antibacteriana y antimicótica, con el empleo de cepas de *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* oxacilina sensible y *Candida albicans*. Se utilizaron distintas concentraciones de cefazolina, ampicilina y miconazol como antibióticos testigos. Se aplicó el método de difusión en pozos de agar nutritivo. Se evaluó la actividad de extractos acuosos de material vegetal. Las estructuras vegetativas y/o reproductivas de *Conyza sumatrensis* mostraron actividad contra todos los microorganismos tratados, mientras 7 taxones lo hicieron contra *Proteus mirabilis* y los extractos de la semilla

de *Bauhinia forficata* subsp. *pruinosa* contra *Staphylococcus aureus*. Los resultados revestirían potencialidad farmacológica debido a la importancia clínica de los microorganismos estudiados⁹.

- Arancibia L, y col. 2010. Plantas aromáticas de la Patagonia: Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Senecio mustersii* y *S. subpanduratus*.

El objetivo de la investigación fue la determinación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de dos especies del género *Senecio* (Asteraceae) de la región Patagónica: *Senecio mustersii* y *S. subpanduratus*. Los aceites esenciales fueron obtenidos mediante hidrodestilación lográndose un rendimiento de 0,81% para *Senecio subpanduratus* y de 0,72% para *Senecio mustersii*, expresado como mL de aceite esencial por cada 100 g de material vegetal fresco. Se evaluó la actividad frente a bacterias y levaduras de importancia clínica: *Senecio mustersii* presenta actividad antibacteriana frente a *S. aureus* y *Senecio subpanduratus* para todas las bacterias testeadas (*S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*). *Senecio mustersii* no presentó actividad antifúngica, mientras que *Senecio subpanduratus* actividad contra algunas especies de *Cándida albicans*¹⁰.

- Kahriman et al. 2011. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de la flor, hoja y raíz de *Senecio pandurifolius*.

El perfil químico revela el predominio de hidrocarburos sesquiterpenos (>40%). Los aceites esenciales tienen actividad contra las bacterias Gram positivas, *Mycobacterium* y hongos, pero no contra bacterias Gram negativas. Así mismo muestra que el aceite esencial de hojas tiene una alta actividad antimicrobiana¹¹.

- Kenoufi et al. 2017. Composición química, actividad antimicrobiana del aceite esencial y número de cromosoma de *Senecio jacobaea* L. de Argelia.

Este aceite se caracterizó por la presencia de pentanol-3-metilo (25,70%), seguido de ciclopentanodiona-3-metil-1,2 (22,83%) y fitol (3,15%). Los hidrocarburos y alcoholes representan el 56% del aceite de *S. jacobaea*. El aceite esencial, probado en 5 cepas bacterianas y levadura, mostró una actividad antimicrobiana relativamente moderada contra todas las bacterias ensayadas. La población de *S. jacobaea* evidenció un número de cromosoma de tetraploide, $2n = 4x = 40$, con un número cromosómico básico $x = 10$ ^{18.12}.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Clasificación Taxonómica:

- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Asterídae.
- Orden: Asterales
- Familia: Asteraceae
- Género: *Senecio*
- Especie: *Senecio nutans* Sch. Bip.
- Nombre común: Wiskataya, Chachacoma, chachakuma (Villagran y Castro, 2004)¹³.

2.2.2. Características de la planta

Descripción Botánica de *Senecio nutans*

- **Arbusto** aromático, perennifolio de 60 x 50 cm, Ramas densamente hojosas.
- **Hojas** alternas, pequeñas, algo alargadas, de 2 - 5 mm x 1 - 2 mm, sésiles, comprimidas sobre el tallo, de borde lobulado a manera de 5 dedos carnosos e involutos.
- **Capítulos** axilares, de 10 x 5 mm, cortamente pedunculados, con dos bractéolas alternas. Calículo formado por 9 brácteas dispuestas en dos verticilos: el

externo con 4 y el interior con 5. Involucro formado por 7 - 9 brácteas lanceoladas de 6,5 mm.

- **Flores** amarillas o amarillo-rojizas, tubulosas, pentadentadas, hermafroditas, actinomorfas, con cáliz plumoso, de color blanco; estambres con anteras unidas; ovario ínfero y estilo dividido en dos ramas.
- **Fruto**, un aquenio glabro. Florece en cualquier época del año, preferentemente en invierno y primavera. Crece en suelos arenosos y arcillosos de laderas de cerros, bordes de la carretera, junto a las especies que forman totorales y pajonales (Linares & Benavides, 1995)¹⁴.

2.2.3 Usos en la medicina tradicional de *Senecio nutans*

En infusión o mate de hojas y flores se utiliza para afecciones estomacales, en casos de soroche o mal de altura. Disminuye la producción de gases en el tubo digestivo y por ello se utiliza en casos de flatulencias, posee acción espasmolítico por lo tanto también es usado en cólicos y ayuda a eliminar parásitos intestinales.

Se utiliza para todo tipo de problemas respiratorios (tos, resfriados, bronquitis, asma), es ligeramente sedante. Disminuye la aparición de problemas visuales (cataratas, miopía), pero refieren que un exceso de esta planta puede causar la ceguera. Sirve para elaborar pomadas para aliviar

dolores y remedio para problemas urinarios (Apumayta 2015)¹⁵.

Otros usos

Se considera como forraje para ganado equino y en la sopa como ingrediente aromático.

2.2.4. Hongos

Son microorganismo eucariotas del reino fungi, que se caracterizan por presentar una pared celular rígida formada por quitina y glucano y una membrana celular que contiene ergosterol. Como saprófitos, su principal fuente de alimentos es la materia orgánica muerta y en descomposición. Se pueden reproducir mediante formación de esporas sexuales (meiosis) o asexuadas (mitosis), (Murray et al. 2015)¹⁶.

Los hongos pueden ser unicelulares o multicelulares, se pueden clasificar según su morfología en levaduras y mohos. Las levaduras suelen ser unicelulares que se reproducen por gemación o fisión. Sin embargo, los mohos son microorganismos multicelulares que se encuentran formadas por estructuras tubulares filiformes llamadas hifas, que se alargan en los extremos por un proceso llamado extensión apical (Murray et al. 2015)¹⁶.

A. *Aspergillus niger*

“Es un género mitospórico que se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originaran las esporas asexuales o conidios” (Lozano, 2011)¹⁷.

Es un hongo filamentoso, que forma colonias de color blanco o amarillo, con esporas negras cuyo crecimiento es de 3 a 7 días a 25°C. El agar dextrosa o agar de papa (PDA) es su medio de cultivo.

El *Aspergillus niger* en altas concentraciones puede causar aspergilosis, que es una enfermedad que produce alteraciones pulmonares (Lozano, 2011)¹⁷.

B. *Candida albicans*

“Es un hongo diploide unicelular que pertenece al grupo de los Deuteromycetes, conocidos con el nombre común de hongos imperfectos, por carecer de ciclo de reproducción sexual conocido, reproduciéndose asexualmente mediante la formación de conidios” (Villamon 2004)¹⁸.

Las infecciones por *Candida albicans* pueden ser: superficiales o sistémicas. La candidiasis superficial puede afectar mucosas del tracto gastrointestinal, oral o vaginal; la candidiasis sistémica se diagnostica encontrando el microorganismo en

sangre o se extiende afectando órganos internos (Villamon 2004)¹⁸.

2.3. MARCO CONCEPTUAL

- **Metabolitos secundarios:** Son compuestos químicos derivados del metabolismo primario, cumplen múltiples funciones no vitales en las plantas. Además, son componentes importantes como principios activos de medicamentos. Entre los principales se encuentran: alcaloides, glicósidos, flavonoides, taninos, aceites esenciales, resinas, etc. (Pérez-Alonso y Jiménez 2011)¹⁹.
- **Extracción de metabolitos:** Para la elaboración de medicamentos a base de material vegetal se debe tomar en cuenta que existen diferentes métodos para extraer los principios activos contenidos en dicha planta, los cuales necesitan de un líquido extractivo que va a depender del procedimiento técnico y de la naturaleza química del principio activo. A continuación, se citarán los métodos de extracción más importantes: percolación, maceración, decocción, infusión, digestión, etc. (Carrión y García, 2010)²⁰.
- **Screening:** Es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés (Lock, 1988)²¹.

- **El tamizaje fitoquímico:** Consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación. Debe de permitir la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente en una orientación y debe de interpretarse en conjunto con los resultados del screening farmacológico (Lock, 1988)²¹.
- **Antimicóticos:** Los antifúngicos o antimicóticos son compuestos químicos, que son utilizados en el tratamiento de las infecciones por hongos, capaces de matar o inhibir el crecimiento del microorganismo (Davicino y col., 2007; Cano y col., 2008)^{22,23}.
- **Actividad antimicótica:** Es la actividad de una sustancia que evita el crecimiento de hongos o puede llegar a provocar su muerte.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA.

3.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Tipo: Básica

Se identifica por recoger nueva información sobre la especie en estudio, para de esta manera poder llegar a brindar, aportar e incrementar nuevos conocimientos que respalden las propiedades terapéuticas atribuidas en base evidencias empíricas.

3.1.2. Nivel: Descriptivo y Explicativo

- Descriptivo: Consiste en analizar una realidad social que está afectando a la salud a través del tiempo.

Con este estudio se podrá examinar y describir el comportamiento diferentes microorganismos (hongos) que comúnmente afecta la salud de la población frente al extracto etanólico de la especie en estudio.

Explicativo: Se encarga de buscar las causas de las distintas reacciones de los microorganismos frente a la actividad del extracto de la planta estudiada.

3.1.3. Diseño de investigación: Experimental

Se trata de una colección de diseños de investigación que utilizan la manipulación y las pruebas controladas para entender los procesos causales. En general, una o más

variables son manipuladas para determinar su efecto sobre una variable dependiente. Es experimento en donde el investigador manipula una variable y controla/aleatoriza el resto de las variables. Cuenta con un grupo de control, los sujetos han sido asignados al azar entre los grupos y el investigador sólo pone a prueba un efecto a la vez.

3.2. Materiales y Equipos.

3.2.1. Materiales:

Papel kraff

Papel Filtro

Vasos Precipitados. 250 mL, 500 mL

Matraz de 500 mL

Pipetas de 10 mL, 5 mL, 1mL

Tubos de Ensayo.

Gradilla

Espátula

Bagueta

Luna de Reloj

Pera de Bromo

Pinzas

Embudo

Propipeta

Placa de porcelana

Fiola

Probeta

Algodón

Frascos PET

Asa de siembra

Placas petri

3.2.2. Equipos:

Estufa

Molino

Balanza analítica

Rotavapor

Potenciómetro

Agitador magnético

Plancha calefactora

Incubadora

Cuenta colonia

Cabina de seguridad

Autoclave

Espectrofotómetro

3.2.3. Reactivos:

Gelatina

Cloruro de sodio

Tricloruro férrico

Ácido Clorhídrico

Magnesio
Etanol 96°
Cloruro de mercurio
Ninhidrina
Agar Muller Hilton
Cloruro de barrio
Ácido sulfúrico
Alcohol 70°
Solución de hipoclorito sódico

3.2.4. Material Biológico

Extracto hidroalcohólico de hojas de *Senecio nutans*
“chachacoma”

Cepas de hongos: *Candida albicans* y *Aspergillus niger*.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

La población del estudio: especies de *Senecio nutans* “chachacoma”, que crecen en el departamento de Ayacucho.

La muestra en estudio: extracto etanólico de las hojas de la especie *Senecio nutans chachacoma* que se recolectó en el anexo de Pallcca, distrito de Chipao, provincia de Lucanas, departamento de Ayacucho durante el mes de noviembre del 2019.

3.4. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.4.1 MÉTODOS DE RECOLECCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA VEGETAL

La especie *Senecio nutans*, se recolectó en el anexo de Palcca, distrito de Chipao, provincia de Lucanas, departamento de Ayacucho, manualmente; luego la planta fue colocada en bolsas de papel kraft para ser trasladada a la ciudad de Ica.

Se realizó desecación a una temperatura de 40°C para no alterar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de la especie en estudio. Luego se procedió con la trituración (manual) obteniendo fracciones pequeñas y posteriormente se realizó una molienda en un molino manual, para colocarlas en frasco ámbar de boca ancha, en donde se conservó debidamente rotulado hasta el momento de los análisis.

- **TAMIZAJE FÍSICOQUÍMICO**

Se tomó 500 g de las hojas secas y pulverizadas de la especie *Senecio nutans*. “chachacoma” se procedió a macerar por 15 días en alcohol de 70°, con agitación periódica para optimizar la extracción de los metabolitos primarios y secundarios, se filtró y luego se procedió a obtener un extracto seco mediante uso de un rotavapor (Lock, 1988)²¹.

3.4.2 DETERMINACIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES

Separadas las fracciones del extracto se procedió a realizar reacciones de coloración o precipitación para identificar grupos funcionales y metabolitos presentes en el extracto de las hojas de *Senecio nutans* “chachacoma”.

1. DETECCIÓN DE TANINOS

Reacción de gelatina-Sal. - Se tomaron tres tubos de ensayo a los que se le adicionó 0,5 mL de extracto al 1° tubo se adicionó 1 mL de NaCl 5%, al 2°gelatina 1% y al tubo 3° gelatina – sal la precipitación con este último reactivo o con ambos 1° y 2° es indicativo de la presencia de taninos, si solamente ocurre con el 1°, podría ser un falso positivo (Lock, 1988)²¹.

Reacción de Cloruro Férrico. - En un tubo de ensayo se colocó 0,5 mL de la fracción A y se le agregó una gota de disolución acuosa de FeCl₃ 1%. La Reacción es positiva cuando aparecen colores azul-negro, verde o azul verdoso (Lock, 1988)²¹.

2. DETECCIÓN DE FLAVONOIDES

Reacción de Shinoda. – Se colocó 20 gotas del extracto en un tubo de ensayo, se agregó limaduras de Mg y 3 gotas de HCl concentrado. Observar el cambio de color. La reacción

es positiva cuando aparecen tonos de color rojo, anaranjado y violeta (Lock, 1988)²¹.

3. DETECCIÓN DE AMINOÁCIDOS

Reacción de Ninhidrina. - Sobre tiras de papel filtro se colocó con una pipeta capilar:

- ✓ Una gota de extracto + una gota de reactivo Ninhidrina al 2%.
- ✓ Blanco: Solución etanólica de Ninhidrina al 2%.

Luego del secado a temperatura ambiente las tiras de papel se colocaron en una plancha calefactora hasta la aparición de un color en el blanco.

La reacción es positiva si el papel de la muestra presenta un color azul violáceo (Lock, 1988)²¹.

4. DETECCIÓN DE ALCALOIDES

Se usaron 4 tubos de ensayo y a cada uno se le adicionó 4 mL de extracto y 1 mL de HCl 1% y luego se procedió con la reacción de precipitación:

- ✓ Dragendorff: se añadió de 2 - 4 gotas y se observó precipitado anaranjado.
- ✓ Mayer: se añadió 2 - 4 gotas y se observó precipitado blanco.
- ✓ Hager: se añadió 2 - 4 gotas y se observó precipitado amarillo.

- ✓ Wagner: se añadió 2 - 4 gotas y observó precipitado marrón (Lock, 1988)²¹.

5. DETECCIÓN DE SAPONINAS

Prueba de espuma. - En dos tubos de ensayo se agitó 2,5 mL del extracto por un minuto. Se dejó reposar 15 minutos y se observó la formación de espuma. Se considera negativa si la altura de la espuma es menor de 5 mm (Lock, 1988)²¹.

6. DETECCIÓN DE SESQUITERPENLACTONAS /CUMARINAS

La prueba de Baljet es una reacción indirecta porque identifica el núcleo esteroideal presente de la genina de estos compuestos, el cual reacciona con el ácido pícrico y produce una coloración roja. Las cumarinas presentan fluorescencia a la luz ultravioleta (azul, amarilla, verde, púrpura), lo cual permite su reconocimiento (Lock, 1988)²¹.

7. DETECCION DE ANTRAQUINONAS

En un tubo de ensayo se colocó unos mg del extracto etanólico de las hojas de chachacoma y 2 mL de benceno. Se agitó y dejó en contacto durante 15 minutos. Se observó la coloración amarilla del benceno (antraquinonas). Se decantó el benceno a otro tubo de ensayo y se añadió 1mL de NH₄OH diluido a la mitad. Se agitó. Se dejó reposar y la capa acuosa aparecerá coloreada en rosa (Lock, 1988)²¹.

8. DETECCIÓN DE TRITERPENOS/ESTEROLES

Se mezcló con cuidado 1,8 ml de anhídrido acético con 0,2 ml de ácido sulfúrico concentrado en medio anhidro. Se tomó 0,2 ml de la fracción B y agregó 0,2 ml del reactivo de Liebermann-Burchard. Se observó una coloración verde oscura que, al poco tiempo del agregado del reactivo, pasó a negra. La formación de colores azul-verdoso indica la presencia de grupo esteroide; la coloración rosada a púrpura evidencia grupo triterpénico (Lock, 1988)²¹.

9. DETECCIÓN DE CARDENÓLIDOS

Reacción de Kedde Solución I: ácido 3,5 dinitrobenzoico al 2% en metanol. Solución II: KOH al 5,7% en agua destilada. Se ensayó sobre papel de filtro. A 1 gota de la Fracción C (llevada previamente a seco y retomada con alcohol), agregar 0,1 ml del Reactivo (preparado con volúmenes iguales de las soluciones I y II). Conviene hacer un blanco reemplazando el Reactivo de Kedde por la solución II para descartar colores producidos en medio alcalino por otras sustancias. La aparición de coloración púrpura o violeta persistente indica la presencia de cardenólidos (Lock, 1988)²¹.

3.4.3 PROCESO DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA

- **OBTENCIÓN DE ESPORAS DE LOS HONGOS FILAMENTOSOS Y CULTIVO DE LEVADURAS**

Las esporas de *Candida albicans* y *Aspergillus niger* se obtuvieron de cultivos de cepas certificadas proporcionadas por el Laboratorio Certilab AP SAC de la ciudad de Lima.

- **PREPARACIÓN DE INÓCULOS**

“Los cultivos de levaduras se resuspendieron en solución fisiológica y las suspensiones se ajustarán a la concentración de 10^6 levaduras/mL. Para los hongos filamentosos el inóculo consistirá en una suspensión de 10^6 conidias/mL”²². Es el segundo caso para efecto de la presente tesis.

- **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA**

La actividad antimicótica de los extractos se evaluó por el método de difusión en agar.

Fundamento:

Agar en difusión: Con este método se ensayaron las dos cepas fúngicas. Se usó 20 mL de agar dextrosa Sabouraud fundido a 45°C que fueron asépticamente mezclados con 1 mL de la suspensión fúngica (1×10^4 UFC/mL) en placas petri de 100 mm x 15 mm. Luego se hizo pozos de 11 mm de diámetro con un sacabocado estéril (esterilizado con alcohol

y a la llamada después de cada pozo) donde se inoculó 0,1 mL del extracto a diferentes concentraciones (2,5 - 20 mg/mL para *Aspergillus niger* y 16,87 – 40 mg/mL para *Candida albicans*). Se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente y se incubó a 28° C de 07 a 14 días según el hongo en evaluación, luego se realizó la lectura, registrando el diámetro de los halos de inhibición. Las pruebas se realizaron por triplicado y con un grupo control (Fármaco comercial) y un blanco (alcohol en que esta disuelto el extracto).²³

Nota: Después del tercer día de incubación, todos los días se observaba en crecimiento para realizar la lectura correspondiente.

3.5. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

3.4.1 Recolección de datos analíticos

Se efectuó el registro de los datos analíticos en el cuaderno de trabajo u hoja de ensayo de acuerdo a las técnicas aplicadas donde se plasman en resultados luego del procesamiento respectivo.

3.4.2 Procesamiento de datos

El análisis estadístico luego de sacar los promedios correspondientes se llevó a cabo utilizando las pruebas de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis²³.

3.6. ASPECTOS ÉTICOS

En este aspecto cada una de las etapas del presente proyecto realizó considerando la ética científica que implica no plagiar, honestidad intelectual en referencia a las fuentes, investigación honesta, reconocimiento del trabajo de los otros, enseñar que los resultados de las investigaciones no se deben modificar, rigor científico, llegar al fondo de los resultados, reportar los datos experimentales de manera verídica, entregar resultados válidos.

RESULTADOS

4.1 Resultados

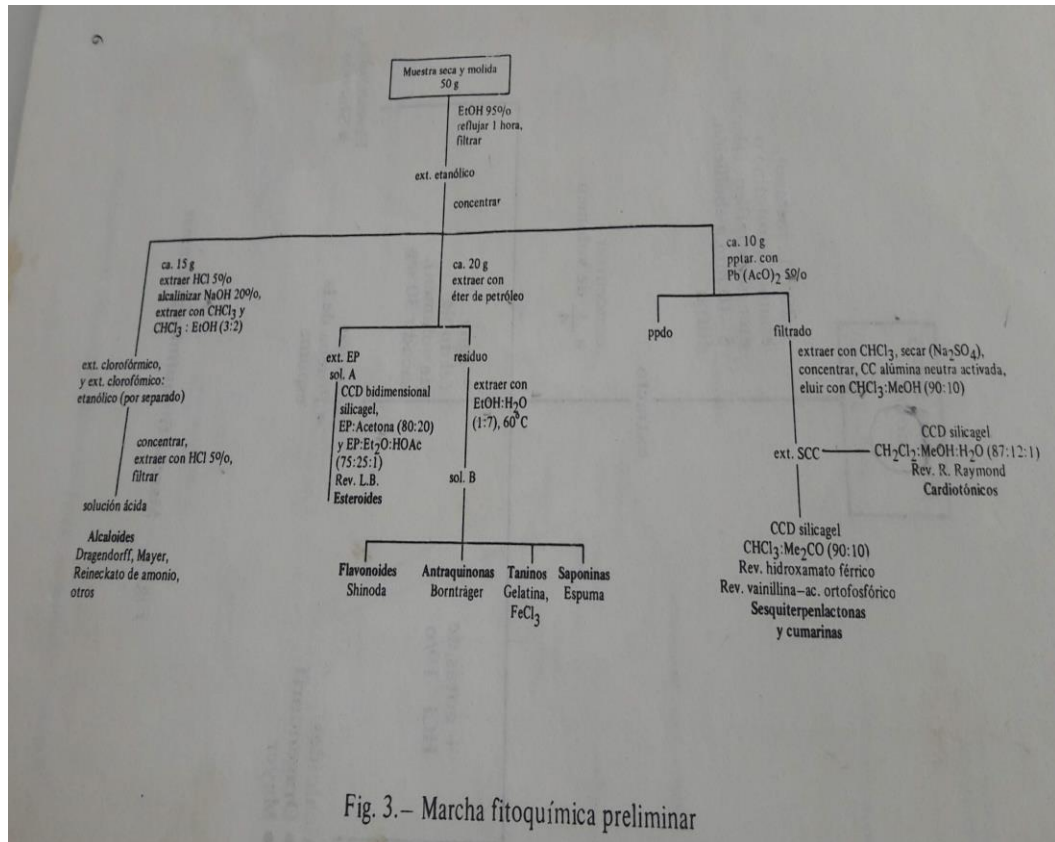


Figura 1. Marcha fitoquímica preliminar seguida en el presente trabajo (según Lock, 1988), con pequeñas modificaciones

Tabla 1. Determinación de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Senecio nutans* chachacoma

Tipo de metabolito	Reacción	Resultado	Observación
Sesquiterpenlactonas y cumarinas	R. Baljet	++	En la CCF con el sistema A presentó dos manchas, Rf: 0,60 y 0,44; con el sistema B, Rf: 0,60 y 0,44
Taninos	R. FeCl ₃	++	
Antraquinonas	R. Bortranger	+	
Esteroides/Triterpenos	R. Lieberman Burchard	+	En la CCF se observó 4 manchas con los siguientes Rf: 0,76; 0,6; 0,5 y 0,4
Cardenolidos	R. kedde	+	En la CCF con el sistema A presentó dos manchas, Rf: 0,93 y 0,53; con el sistema B, Rf: 0,93 y 0,51
Alcaloides	Dragendorff	++	Reacción lenta
	Mayer	++	
Flavonoides	R. Shinoda	++	

CCF = cromatografía en capa fina

Solo están expresadas metabolitos secundarios que dieron positivo

Tabla 2. Actividad antimicótica del extracto etanólico de hojas de *Senecio nutans* chachacoma frente a cepas *Aspergillus niger*

Concentración experimental	R1	R2	R3	Promedio de halo (mm)	% inhibición
Blanco	0	0	0	0	0
2,5 mg/mL	0	0	0	0	0
5,0 mg/mL	0	0	0	0	0
10 mg/mL	17,9	19,7	18,8	18,8	70
20 mg/mL	24,5	25,9	24,8	25,1	89
Patrón	29,2	27,4	28,1	28,2	100

Patrón: fluconazol

% inhibición: es en relación frente al control positivo.

Tabla 3. Actividad antimicótica del extracto etanólico de hojas de *Senecio nutans* chachacoma frente a cepas *Candida albicans*

Concentración experimental	R1	R2	R3	Promedio de halo (mm)	% inhibición
Blanco	0	0	0	0	0
16,87 mg/mL	12,8	14,9	14,6	14,1	32,94
22,5 mg/mL	14,4	15,8	12,8	14,3	33,41
30 mg/mL	14,1	14,2	13,5	14,1	32,94
40 mg/mL	15,6	16,5	17,1	16,3	38,08
Patrón	39,8	44,4	44,2	42,8	100

Patrón (ketoconazol):

4.2 Discusión

La figura 1, es una de las marchas fitoquímicas recomendada por Lock, 1988²¹, y fue elegida considerando la accesibilidad de los reactivos, materiales y condiciones de laboratorio con las que se contaba en el momento de comenzar las pruebas experimentales de la tesis, se realizaron pequeñas modificaciones como la cantidad de muestra inicial, con respecto al solvente el cambio de benceno por tolueno; como consecuencia de la aplicación de la marcha fitoquímica tenemos la tabla 1, que nos muestra la presencia de los metabolitos secundarios detectados en el extracto etanólico de hojas de *Senecio nutans* chachacoma procedente del anexo de Pallcca, distrito de Chipao, provincia de Lucanas, departamento de Ayacucho; recolectada durante el mes de noviembre del 2019, es importante indicar la procedencia; así, como la época de recolección porque estudios indican que la composición y cantidad de metabolitos secundarios en una especie están influenciados por factores agronómicos y ambientales (Surco, 2016)²⁴; el extracto se obtuvo por maceración durante 15 días en alcohol del 70°, con agitación entre días para facilitar la difusión de los metabolitos hacia el solvente. Una vez obtenido el extracto este se concentró en un evaporador rotatorio hasta obtener una masa densa fluida, a ésta se le realizó un fraccionamiento con distintos solventes (Lock 1988)²¹, para

posteriormente realizar reacciones de coloración y/o precipitación que permitió detectar la presencia de los grupos de compuestos que se muestra en la tabla 1, hay que destacar la presencia de taninos, flavonoides, alcaloides y cumarinas, tipos de compuestos a los que muchas veces se les relaciona con un actividad antioxidante. Si bien es cierto en el género *Senecio* es reconocida la presencia de terpenoides y flavonoides (Nicolodi et al., 2007)²⁵; para la especie *Senecio Westermanii* Dusen se reporta la presencia de alcaloides, flavonoides, iridoides y esteroides/triterpenos en diversas fracciones según Merino et al, 2015²⁶; asimismo, para la especie *Senecio atacamensis* Phil se reporta en su aceite esencial, la presencia de triterpenoides según Benites et al., 2011²⁷; y en lo que respecta a estudios en la misma especie (*Senecio nutans* o *graveolens*) Apumayta, 2015¹⁵ determina la presencia de taninos, saponinas, glicosidos, flavonoides y azúcares, encontrándose en este caso ciertas diferencias, lo que nos refuerza el hecho que las condiciones agronómicas y sobre todo la procedencia produce variaciones en la composición; más hay que tener en consideración que este autor obtuvo el extracto inicial acuoso.

La actividad antimicótica o fúngica de los metabolitos secundarios podría darse a diferentes niveles, desde alterar la estructura de la hifa al actuar sobre pared, membrana celular y citoplasma (Radulović et al. 2014)²⁸ hasta la intervención en la función de

enzimas, proteínas transmembranales transportadoras de iones y producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Nazzaro et al. 2017)²⁹.

En la determinación de la actividad antifúngica frente al *Aspergillus niger* se trabajó con una concentración preliminar de 7,5mg/mL en la cual se observó un pequeño halo de crecimiento, esto fue la razón por la cual luego se decidió tomar dos concentraciones inferiores y dos superiores de extracto para realizar la actividad mencionada; sin embargo, en la prueba final solo se obtuvo actividad antimicótica del extracto en la concentraciones de 10 mg/mL y 20 mg/mL con porcentajes de inhibición del hongo de 70 y 89 por ciento respectivamente frente al control positivo que fue el fluconazol a una concentración de 5 µg/mL, estos valores se puede considerar que pueden ser un alta actividad antimicótica ya que un valor por encima del 70% frente al fármaco de referencia es considerable.

En el caso de la actividad antimicótica frente al *Candida albicans* a las concentraciones iniciales no se detectó ningún halo de inhibición por lo que se optó por concentraciones superiores en el rango de 16,87 -40 mg/mL de extracto, de igual manera en este caso se buscó un patrón de referencia al cual dicho hongo fuera más sensible considerándose al ketoconazol para tal fin; obteniendo valores de 32 a 38 porciento de inhibición frente al

fármaco de referencia siendo estos valores de una pobre actividad.

En la revisión bibliográfica realizada para esta tesis no se encontraron trabajos de la actividad antimicótica o fúngica para esta especie, pero si para algunos miembros de la familia Senecioneae, tan es así , que García M, 2017³⁰ en un estudio de revisión de Metabolitos secundarios con actividad antifúngica en la tribu Senecioneae manifiesta que se encontraron pocos estudios que evalúen la actividad antifúngica de los metabolitos secundarios producidos por la tribu, y los resultados presentados son altamente variables. Por ejemplo, los alcaloides pirrolizidínicos presentaron 35% y 10% de inhibición del crecimiento de *Trichoderma sp.* y del fitopatógeno *Fusarium sambucinum*, respectivamente, para la concentración de 1,08 mg/mL; sesquiterpenos con actividad antifúngica, en un ensayo de difusión en placas de agar con los aceites esenciales de hojas y flores de *Xenophyllum poposum*, en el que obtuvieron la máxima inhibición del crecimiento de *Aspergillus fumigatus* y del dermatofito *Trichophyton rubrum* a una concentración de 0,025 mg/mL del aceite esencial; el aceite esencial extraído de las raíces de *Senecio aegyptius* var. *discoideus*, en el que se encontró un halo de inhibición de crecimiento de 20 mm en *Aspergillus niger* a una concentración de 20 mg/mL; esta actividad se le atribuyó al 1,10-epoxifuranoeremofilano.

Ante estas evidencias se puede considerar que la actividad antimicótica determinada en el extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* chachacoma se debe a la presencia de los siguientes metabolitos, sesquiterpenlactonas y alcaloides.

CONCLUSIONES.

1. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico obtenido de las hojas de *Senecio nutans* “chachacoma” fueron lactonas sesquiterpénicas, antraquinonas, alcaloides, flavonoides y esteroides/triterpenos.
2. La concentración efectiva del extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* “Chachacoma” frente al *Aspergillus niger* fue de 10 mg/mL, considerándose de alta actividad; mientras que frente a *Candida albicans* fue una concentración entre 16,87 a 40 mg/mL, presentando una pobre actividad antimicótica en relación a los patrones usados.

RECOMENDACIONES

1. Ampliar el rango de especie de hongos en estudios, sobre todos para aquellos de naturaleza fitosanitarios.
2. Realizar estudios de aislamiento de los grupos de metabolitos secundarios determinados, que se asocian según las referencias bibliográficas con la actividad antimicótica.
3. Determinar la concentración mínima bactericida para cada uno de los hongos estudiados, así como la toxicidad del extracto.

FUENTES DE LA INFORMACIÓN

1. Huamaní A, Ruiz Q. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida Albicans* y *Aspergillus Niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú. Tesis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2005.
2. Ruiz Q. Actividad Antifungica *In vitro* y Concentración Mínima Inhibitoria mediante Microdilución de ocho plantas medicinales. Tesis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2013.
3. Marcos A, Mendieta L. Determinación de fitoconstituyentes del extracto hidroetanólico de las hojas de *Senecio truxillensis* Cabrera y su efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Tesis. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2015.
4. Nuñez K, Romero T. Elaboración de una forma farmacéutica semi-solida con actividad antiinflamatorio a partir del extracto etanólico de hojas de *Senecio nutans* Schulz Bipontinus "Chocra" Tesis. Universidad Nacional san Luis Gonzaga. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2015.
5. Vargas A. Contenido de flavonoides y fenoles totales en hojas de tres especies del género *Senecio* y determinación de su actividad antioxidante in vitro. Ayacucho, Universidad Nacional de San

- Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. 2018.
6. OMS. Resistencia a los antibióticos. 5 febrero de 2018. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
 7. Anselmo R, Flores R. Actividad Antimicótica del Extracto Etanólico de las Hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, in vitro. Tesis. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. 2018.
 8. Aparicio R, Rojas L, Velasco J, Usubillaga A, Sosa M, Rojas J. Caracterización química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Libanothamnus neriifolius* (Asteraceae). Revista Peruana de Biología, 2019: 26 (1), 096 – 100.
 9. Luján M, Pérez C. Cribado para evaluar actividad antibacteriana y antimicótica en plantas utilizadas en medicina popular de Argentina. Rev Cubana Farm. 2008: 42 (2).
 10. Arancibia L, Naspi C, Pucci G, Arce M. Aromatic plants from Patagonia: chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Senecio mustersii* and *S. subpanduratus*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2010: 9 (2), 123-126.
 11. Kahrman N, Tosun G, Terzioglu S, Karaoglu S. A, Yayli N. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from the

- Flower, Leaf, and Stem of *Senecio pandurifolius*. Rec Nat Prod. 2011: 5 (2), 82-91.
12. Kenoufi M, Lograda T, Ramdani M, Chalard P, Figueredo G. Chemical composition, antimicrobial activity of essential oil and chromosome number of *Senecio jacobaea* L. from Algeria. Int J Pharma Res Health Sci. 2017: 5 (2), 1672-1678.
13. Villagran C., Castro V, Ciencia indígena de los Andes del norte de Chile: Programa Interdisciplinario de Estudios en Biodiversidad (PIEB), Universidad de Chile, pag 211-212, ed universitaria 2004.
14. Linares E. & Benavides A., Flora silvestre del transecto Yura-Chivay, Departamento de Arequipa. Boletín de Lima Nº 100:211-254, 1995.
15. Apumayta J. Caracterización de los componentes bioactivos y la aceptabilidad organoléptica del filtrante a base de Chachacoma (*Senecio graveolens*). Tesis. Universidad Nacional de Huancavelica. Facultad de Ciencias Agrarias. 2015.
16. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. Elsevier. 8ª ed. España. 2016.
17. Lozano M. Aislamiento y purificación del hongo *Aspergillus niger* para la obtención de enzimas clarificadoras aplicables en biotecnología de jugos. Tesis. Universidad del Azuay. Facultad de Ciencia y Tecnología. 2011.
18. Villamon E. Participación de TLR2 y MyD88 en la respuesta inmune frente a *Candida albicans*. Tesis. Universidad de Valencia. Facultad de Farmacia. 2004

19. Pérez-Alonso N, Jiménez E. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro*. *Biotecnología Vegetal*. 2011: 11 (4), 195 – 211.
20. Carrión A, García C. Preparación de Extractos Vegetales: Determinación de Eficiencia de Metodica. Tesis. Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas. Ecuador, 2010.
21. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. PUCP. Fondo Editorial., Lima. 1988.
22. Davicino R, Mattar M, Casali Y, Si Correa S, Pettenati E y Micalizzi B. Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Revista peruana de biología*, 2007: 14(2), 247-251.
23. Cano C, Bonilla P, Mirtha Roque M, Ruiz J. Actividad antimicótica *in vitro* y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis* (muña). *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica Rev*. 2008: 25(3), 298-301.
24. Surco-Laos F, Valle M, Loyola E, Dueñas M, Santos C. Actividad antioxidante de metabolitos de flavonoides originados por la microflora del intestino humano. *Rev Soc Quím Perú*. 2016; 82(1): 29-37.
25. Nicolodi L.F., Deuschle R, Mallmann C.A., Alves S.H., Heinzmann B.A. Atividade antimicrobiana de *Senecio heterotrichius* DC. (Asteraceae) *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 43, n. 2, abr./jun., 2007

26. MERINO, F. J. Z. et al. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. Rev. Bras. Pl. Med, v. 17, n. 4, supl. III, p. 1031-1040, 2015.
27. Benites, J.; Bravo, F.; Rojas, M.; Fuentes, R.; Moiteiro, C.; Florencia V. 2011. Composition and antimicrobial screening of the essential oil from the leaves and stems of *Senecio atacamensis* Phil. from Chile. Journal of the Chilean Chemical Society 56(2): 712 – 714
28. Radulović, N. S., Mladenovic, M. Z., & Blagojevic, P. D. (Un) Targeted Metabolomics in Asteraceae: Probing the Applicability of Essential-Oil Profiles of *Senecio* L. (Senecioneae) Taxa in Chemotaxonomy. Chemistry & Biodiversity, 2014:11, 1330–1353
29. Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017). Essential oils and antifungal activity. Pharmaceuticals, 10(4), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>
30. García Contreras, María. Metabolitos secundarios con actividad antifúngica en la tribu Senecioneae (Asteraceae). Metabolitos secundarios con actividad antifúngica en la tribu Senecioneae (Asteraceae) Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/50458/Metabolitos%20secundarios%20con%20actividad>

ANEXO N° 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMAS	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
General: ¿Presentará actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> “chachacoma”? Específicos: ¿Qué tipo de metabolitos secundarios presenta el extracto etanólico de las hojas de	General: Comprobar la actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> “Chachacoma”. Específicos: Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico obtenido de las hojas de <i>Senecio</i>	<i>Senecios nutans</i> es un arbusto aromático, perennifolio de ramas densamente hojosas. Hojas alternas, pequeñas, algo alargadas, sésiles, comprimidas sobre el tallo, flores amarillas o amarillo-rojizas, tubulosas, pentadentadas, hermafroditas, y fruto un aquenio glabro. En infusión se la utiliza para dolores estomacales, mal de altura, pero refieren que un exceso de esta planta puede causar la ceguera. Para el dolor de estómago, puna (mal de	General: El extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> “chachacoma” posee actividad antimicótica. Específicas: Los metabolitos secundarios predominantes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> “chachacoma” son flavonoides,	Independiente: Extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> “Chachacoma”. INDICADOR: Metabolitos secundarios. Reacción de coloración y precipitación. Dependiente Actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> “Chachacoma”.	TIPO DE INVESTIGACIÓN Básica. NIVEL DE INVESTIGACIÓN: Descriptivo y Explicativo. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN: Experimental. POBLACIÓN: La población del estudio: especie de <i>Senecio nutans</i> “chachacoma”. La muestra: plantas de chachacoma que crecen en el anexo de

<i>Senecio nutans</i> “chachacoma”? ¿Presenta el extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> “chachacoma” actividad antimicótica frente a <i>Candida albicans</i> y <i>Aspergillus niger</i>?	<i>nutans</i> “chachacoma”. Determinar la concentración efectiva del extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> “Chachacoma” frente hongos como: <i>Candida albicans</i> y <i>Aspergillus niger</i>.	altura), se toma como mate (hojas y ramas) para la fiebre, tos y resfriado fuerte. Los antifúngicos o antimicóticos son compuestos químicos, que son utilizados en el tratamiento de las infecciones por hongos, capaces de matar o inhibir el crecimiento del microorganismo; y aunque este es su principal objetivo, irónicamente se han presentado casos de resistencia como resultado del manejo indebido de las dosis y automedicación por parte del consumidor.	alcaloides y terpenos. El extracto etanólico de las hojas de <i>Senecio nutans</i> “chachacoma” posee actividad antimicótica frente a <i>Candida albicans</i> y <i>Aspergillus niger</i>.	INDICADOR: Inhibición del crecimiento de las cepas de mohos.	Palcca, distrito de Chipao, provincia de Lucanas, departamento de Ayacucho que se recolectará en el mes de noviembre del 2019. DETERMINACIÓN: GRUPOS FUNCIONALES Taninos, Flavonoides, Aminoácidos, Alcaloides, Saponinas. Inhibición de crecimiento de microorganismos Diámetro de inhibición.
--	--	--	--	---	--

ANEXO N° 2



Recolección, selección y secado



Extracto clorofórmico



Extracto clorofórmico
etanólico



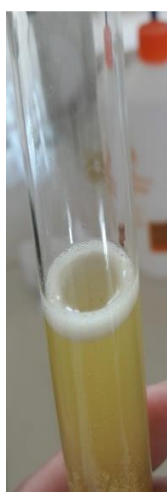
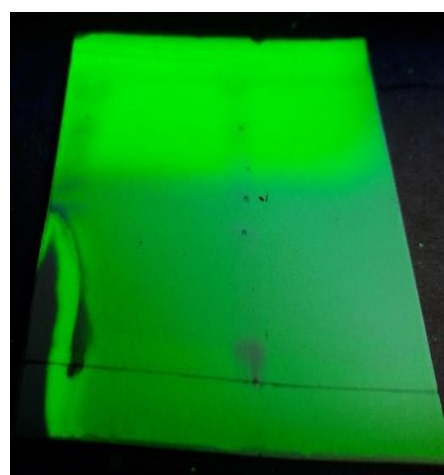
Mayer

Dragendorff

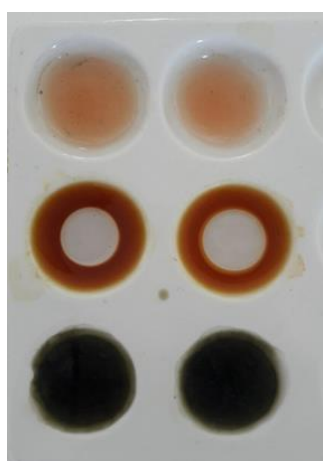
Esteroides



Extracto – Éter de petróleo



Saponinas



Flavonoides

Antraquinona

Taninos



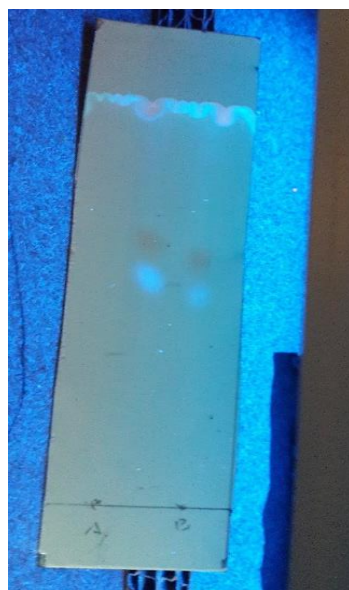
Muestra +
 $\text{Pb}(\text{AcO})_2$ 5%



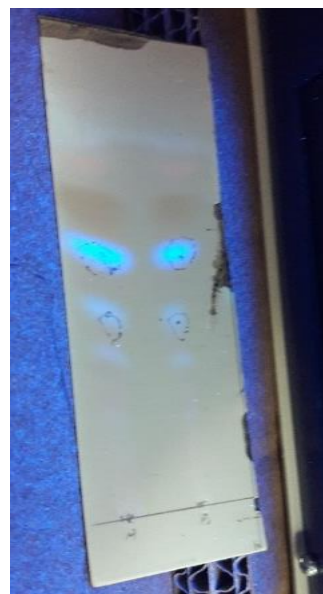
Filtrado

Extraer con CHCl_3

Secar con Na_2SO_4



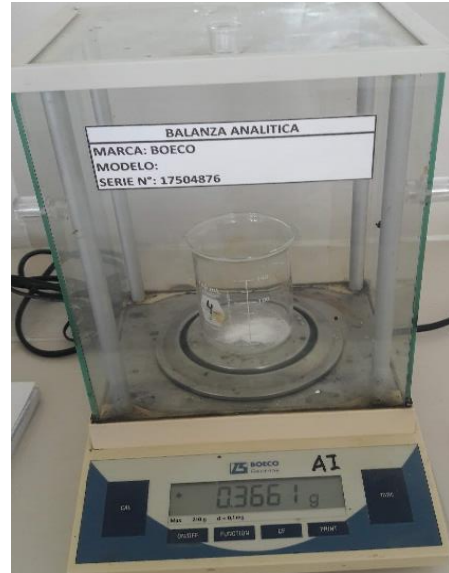
Cardiotónicos



Sesquiterpenlactonas
y cumarinas



Agar glucosa 4% según Sabouraud



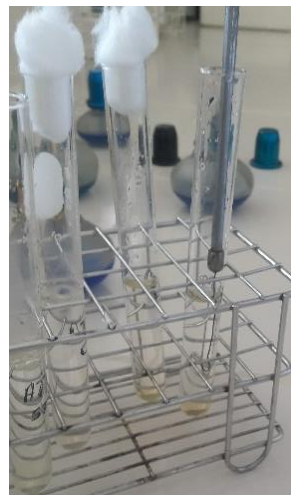
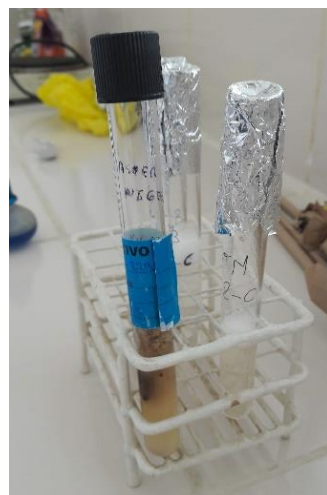
Antimicótico



Extracto



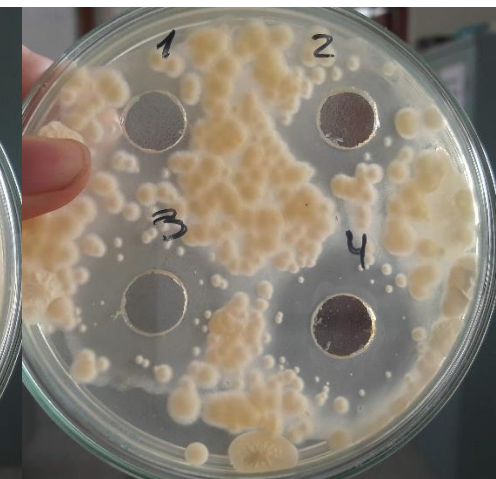
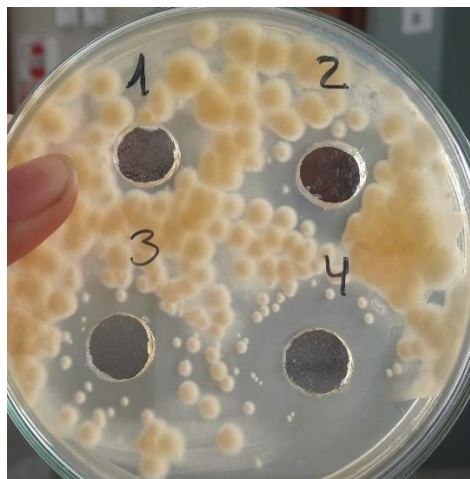
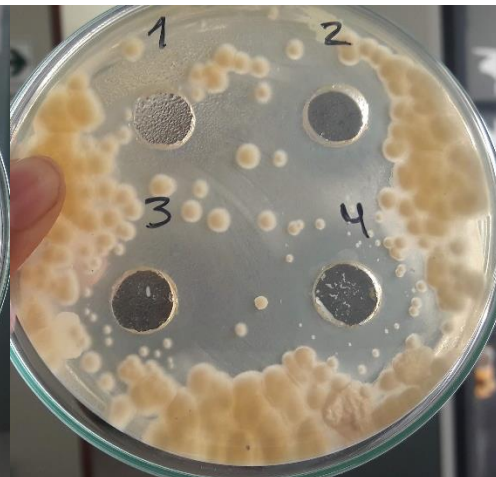
Diluciones del extracto



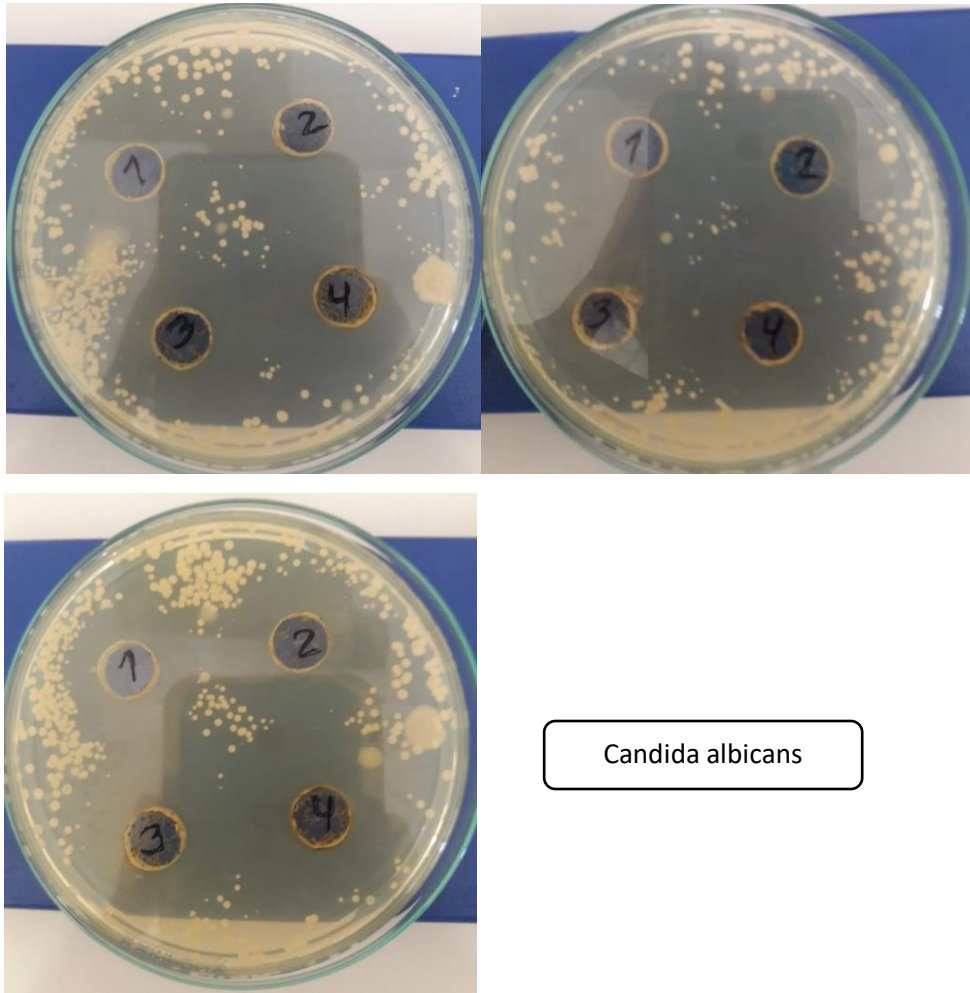
Preparación de Caldo de cultivo



Disolución de agar



Aspergillus niger



Candida albicans



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 148-USM-2019

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa), recibida de **Natalia Huamani Gutiérrez y Yudith Celia Trillo Chávez**; estudiantes de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica; ha sido estudiada y clasificada como: ***Senecio nutans* Sch.B.p.** (H.B.K) Cuatrec; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: Senecio

ESPECIE: *Senecio nutans* Sch.B.p

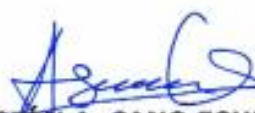
Nombre vulgar: "Chachacoma"

Determinado por: Mag. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 13 de mayo de 2019




Mag. **ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA**
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb