



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

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



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



AT 2025-FFBB-037

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

**Determinación de la actividad antifúngica del extracto etanólico
de las hojas de *Vallesia glabra* “Perlillo”**

Presentado por:

PADILLA PISCONTE CESAR PAUL

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **4%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Con Código de Matrícula: 20124244

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 19 de mayo de 2025

.....
Dr. PEÑA GALINDO JULIO JOSE
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Determinación de la actividad antifúngica del extracto etanólico de
las hojas de *Vallesia glabra* “Perlillo”

Línea de investigación

Salud Pública y Conservación del Medio
Ambiente

AUTOR

Bach. César Paul Padilla Pisconte

Ica, Perú

2025

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a Dios por darme la fortaleza física, emocional y espiritual para poder continuar en este largo camino.

A mis padres y hermano por guiarme y ser mi luz en los momentos difíciles, por ayudarme día a día en la lucha por la conclusión de mi meta profesional y enseñarme que con esfuerzo, perseverancia y paciencia se puede cumplir un sueño.

Gracias querida familia por su apoyo.

AGRADECIMIENTO

Primero agradecer a Dios por guiarme y estar conmigo en cada paso que doy, por iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo este tiempo.

Agradecer de manera infinita a mis padres por el amor, apoyo y comprensión que me brindan sin escatimar sacrificio alguno; por sus noches de desvelos y sus días de anhelos, por inculcarme principios y valores con los que caminar por la vida intentando hacer las cosas bien y sobre todo intentando ser cada vez mejor persona.

Agradecer a mi hermano que me apoyo desde un principio y hasta el día de hoy lo sigue haciendo, demostrando su cariño y esfuerzo para que pueda este sueño se pueda cumplir.

A la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica por contribuir en mi formación académica y ética profesional.

Al Q.F. Juan Pablo Mozo Parvina por ser mi guía y soporte intelectual en este proceso de investigación. Gracias por su esfuerzo, paciencia, y consideración.

A mis amigos y a todas las personas que colaboraron de una u otra manera para la culminación de este trabajo de investigación.

ÍNDICE

	Pág.
Portada	
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice	iv
Índice de tablas	v
Índice de figuras	vii
Resumen	viii
Abstract	ix
I. Introducción	10
II. Estrategia metodológica	29
III. Resultados	39
IV. Discusión	49
V. Conclusiones	51
VI. Recomendaciones	52
VII. Referencias bibliográficas	53
VIII. Anexos	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados del screening fitoquímico (Marcha fitoquímica) del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo)	39
Tabla 2. Actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) frente a cepas de <i>Candida albicans</i>	40
Tabla 3. Actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) frente a cepas de <i>Aspergillus niger</i>	42
Tabla 4. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> frente a la cepa de <i>Candida albicans</i> según las unidades formadoras de colonias (UFC)	44
Tabla 5. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> frente a la cepa de <i>Aspergillus niger</i> según las unidades formadoras de colonias (UFC)	44
Tabla 6. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) frente a cepas de <i>Candida albicans</i>	45
Tabla 7. Prueba Tukey y un nivel de confianza de 95% de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> .	45
Tabla 8. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) frente a cepas de <i>Aspergillus niger</i> .	46
Tabla 9. Prueba Tukey y un nivel de confianza de 95% de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) frente a cepas de <i>Aspergillus niger</i>	46
Tabla 10. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> frente a la cepa de <i>Candida albicans</i> según las unidades formadoras de colonias (UFC)	47
Tabla 11. Prueba Tukey y un nivel de confianza de 95% de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> frente a la cepa de <i>Candida albicans</i> según las unidades formadoras de colonias (UFC)	47

Tabla 12. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> frente a la cepa de <i>Aspergillus niger</i> según las unidades formadoras de colonias (UFC)	48
Tabla 13. Prueba Tukey y un nivel de confianza de 95% de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> frente a la cepa de <i>Aspergillus niger</i> según las unidades formadoras de colonias (UFC)	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de <i>Vallesia glabra</i>	17
Figura 2. Las micosis principales y los hongos que la causan	18
Figura 3. Colonias blancas de <i>Candida</i> spp en agar de Sabouraud.	23
Figura 4. <i>Aspergillus niger</i> , cabeza globosa, fiálides radiadas, esporas oscuras	25
Figura 5. Promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> frente a la cepa de <i>Candida albicans</i>	41
Figura 6. Promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> frente a la cepa de <i>Aspergillus niger</i>	43
Figura 7. Selección, secado y molienda de las hojas de Perlillo	64
Figura 8. Proceso de maceración y obtención del extracto etanólico de las hojas de Perlillo	64
Figura 9. Proceso de identificación de los metabolitos secundarios	65
Figura 10. Identificación de alcaloides, saponinas y flavonoides	65
Figura 11. Identificación de cumarinas, triterpenoides y esteroides	66
Figura 12. Identificación de taninos y compuestos fenólicos	66
Figura 13. Cepas de los hongos, concentraciones del extracto etanólico de las hojas de Perlillo, control positivo y blanco	67
Figura 14. Preparación y proceso de inoculación de las placas	67
Figura 15. Resultados de la actividad antifúngica de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de Perlillo, control positivo y blanco frente a <i>Aspergillus niger</i>	68
Figura 16. Resultados de la actividad antifúngica de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de Perlillo, control positivo y blanco frente a <i>Candida albicans</i>	68
Figura 17. Preparación de los tubos de macrodilución con los grupos de tratamiento y el proceso de incubación	69
Figura 18. Proceso de barrido (estriado) e incubación de las placas durante el proceso de la determinación de la concentración mínima inhibitoria	69
Figura 19. Resultados de la CMI de los grupos de tratamiento sobre la cepa de <i>Candida albicans</i>	70
Figura 20. Resultados de la CMI de los grupos de tratamiento sobre la cepa de <i>Aspergillus niger</i>	70

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo) sobre *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. El tipo de investigación es de tipo transversal, de diseño experimental y nivel básico. El extracto se consiguió por maceración y se le realizó screening fitoquímico. Se usaron los métodos de difusión en agar y macrodilución para determinar la actividad antifúngica y la concentración mínima inhibitoria (CMI) respectivamente, con concentraciones del extracto de 25%, 50%, 75% y 100% y Fluconazol como control positivo (C+). Obteniendo como resultado del screening fitoquímico la presencia de alcaloides, saponinas, cumarinas, flavonoides, compuestos fenólicos y triterpenoides como metabolitos secundarios; referente a la actividad antifúngica para *Candida* las concentraciones de 50%, 75% y 100% con halos de inhibición de 24.1 mm, 26.8 mm y 29.4 mm respectivamente y para *Aspergillus* las concentraciones de 75% y 100% con halos de inhibición de 23.4 mm y 25.1 mm respectivamente. Para la CMI de *Candida* fue la concentración de 50% con 142 UFC/ml y para la CMI de *Aspergillus* fue la concentración de 75% con 187 UFC/ml. Concluyendo que el extracto tiene actividad antifúngica sobre *Candida* en concentraciones de 50%, 75% y 100% pero no mayor al C+, con una CMI del 50%; y para *Aspergillus* en concentraciones de 75% y 100% pero no mayor al C+, con una CMI del 75%.

Palabras claves: *Vallesia glabra*, actividad antifúngica, extracto etanólico, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*.

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the antifungal activity of the ethanolic extract of *Vallesia glabra* (Perlillo) leaves on *Candida albicans* and *Aspergillus niger*. The type of research is cross-sectional, experimental design and basic level. The extract was obtained by maceration and phytochemical screening was performed. The agar diffusion and macrodilution methods were used to determine the antifungal activity and the minimum inhibitory concentration (MIC) respectively, with extract concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% and Fluconazole as positive control (C +). Obtaining as a result of the phytochemical screening the presence of alkaloids, saponins, coumarins, flavonoids, phenolic compounds and triterpenoids as secondary metabolites; Regarding the antifungal activity for *Candida*, the concentrations were 50%, 75% and 100% with inhibition zones of 24.1 mm, 26.8 mm and 29.4 mm respectively, and for *Aspergillus*, the concentrations were 75% and 100% with inhibition zones of 23.4 mm and 25.1 mm respectively. For the *Candida* MIC, the concentration was 50% with 142 CFU/ml and for the *Aspergillus* MIC, the concentration was 75% with 187 CFU/ml. It was concluded that the extract has antifungal activity on *Candida* at concentrations of 50%, 75% and 100% but not higher than C+, with an MIC of 50%; and for *Aspergillus* at concentrations of 75% and 100% but not higher than C+, with an MIC of 75%.

Keywords: *Vallesia glabra*, antifungal activity, ethanolic extract, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*.

I. INTRODUCCIÓN

La flora mundial se compone de 250 000 especies, donde el 10% se localiza en el Perú. Se estima que solamente el 60% de la flora peruana ha sido estudiada, correspondiendo el 30% de origen endémico y unas 1408 especies de utilización medicinal. A pesar del amplio uso de las plantas medicinales por la población, aún no se conoce o no se aprovecha la utilidad de diversas especies, lo que justifica la necesidad de invertir en investigación bajo parámetros científicos modernos y las normas éticas internacionales.¹

El uso de plantas medicinales es uno de los métodos de tratamiento más antiguos y populares, que se remonta a tiempos prehistóricos. Cada una de las culturas han desarrollado sus propias tradiciones de medicina tradicional utilizando remedios y rituales que utilizan plantas locales. La curación con hierbas se conoce en el Perú desde tiempos precolombinos. La biodiversidad de nuestro territorio hace de esta línea de productos un gran potencial pues, como señala el Dr. Fernando Cabieses, muchas de estas plantas se utilizan no sólo en farmacopeas y medicina moderna sino también en la industria de perfumes, jabones, aromatizantes, pesticidas, etc.²

En tal sentido, la relación de la medicina tradicional y la medicina científica por medio de la investigación etnobotánica, el estudio de los principios activos y la certificación de la actividad terapéutica de las plantas, permitirá administrar y disponer de las riquezas naturales para el tratamiento de las enfermedades que atañen comúnmente a la población.³

Las infecciones por hongos más comunes no son peligrosas, pero hay hongos que pueden causar complicaciones graves en las personas, especialmente en aquellas con inmunidad reducida. Las más peligrosas incluyen enfermedades respiratorias causadas por hongos como *Aspergillus* (aspergilosis), así como enfermedades sistémicas causadas por *Candida*. En general, las infecciones por hongos afectan a unos mil millones de personas alrededor del mundo cada año y causan la muerte a un millón y medio de ellas. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la incidencia y el alcance geográfico de las enfermedades fúngicas están aumentando en todo el mundo, principalmente debido al calentamiento global, al aumento de los viajes y el comercio internacional. Se ha informado que la incidencia de infecciones fúngicas invasivas en pacientes hospitalizados ha aumentado significativamente durante la pandemia de Covid-19. A medida que se incrementa la resistencia al tratamiento de los hongos causantes de infecciones comunes, también se acrecienta el riesgo de infecciones más invasivas en la población general.⁴

La aspergilosis invasiva (AI) es la infección fúngica más común en personas inmunodeprimidas. A pesar de muchos avances en el diagnóstico y tratamiento de la AI, la tasa de mortalidad sigue siendo elevada. Globalmente se estima que la incidencia anual acumulada de AI es de 250 000

casos y la tasa de mortalidad es de aproximadamente 30 a 80%. En 2014, la incidencia de AI en el Perú se estimó en 1.621 casos. AI ataca con mayor frecuencia a los pulmones, puede ocurrir enfermedad con algunos signos y síntomas: fiebre, dolor en el pecho, dificultad para respirar, tos y/o toser sangre. Su tratamiento con antifúngicos suele durar desde varios meses hasta más de un año.⁵

Hoy en día, la candidiasis sigue representando una infección fúngica común, a menudo causada por *Candida albicans* y puede manifestarse como candidiasis vulvovaginal o aftas, candidiasis mucocutánea. *Candida* es un microorganismo oportunista que causa candidiasis sistémica profunda y candidiasis mucosa. La aparición de resistencia a los medicamentos y los efectos secundarios de los fármacos antimicóticos actualmente disponibles ha limitado su uso como profilaxis a largo plazo contra las infecciones por *Candida*.^{6,7}

1.1. Descripción de la realidad problemática.

Las infecciones por hongos tienen un impacto importante en la morbilidad y mortalidad humana, pero el impacto de estas enfermedades en la salud no se ha evaluado exhaustivamente y, a pesar de la necesidad urgente de pruebas de diagnóstico efectivas, nuevos medicamentos e investigaciones seguras y efectivas sobre la fisiopatología humana, las infecciones por hongos en última instancia se quedan atrás de las enfermedades causadas por otros patógenos. Las infecciones musculoesqueléticas más comunes son *Candida*, *Aspergillus*, hongos dimórficos (*Blastomyces*, *Coccidioides*, *Histoplasma*) y *Cryptococcus*, que causan síntomas que suelen ser subagudos y pueden enmascarar otras enfermedades.^{8,9}

Las infecciones por hongos, tanto superficiales como sistémicas, están aumentando y afectan a casi 40 millones de personas en todo el mundo. Entre los patógenos que causan lesiones cutáneas, las infecciones por hongos son las más comunes. Por ejemplo, la candidiasis es una infección fúngica causada por hongos del género *Candida*, principalmente *Candida albicans* (de los cuales es el más común). En particular, este hongo vive de forma natural en nuestro cuerpo, piel, intestinos, mucosa oral y microbiota vaginal.¹⁰

Por otro lado, el género *Aspergillus* incluye hongos filamentosos, algunos de los cuales son patógenos oportunistas. Actualmente se sabe que muchas especies de *Aspergillus* causan enfermedades en humanos y los factores de riesgo incluyen la inmunosupresión causada por el tratamiento con corticosteroides, quimioterapia, radioterapia o anticuerpos monoclonales (anti-TNF). Las formas clínicas de las enfermedades son la aspergilosis invasiva, aspergilosis crónica pulmonar, la aspergilosis broncopulmonar y la aspergilosis cerebral. Las formas invasivas son causadas por *A. fumigatus*, seguido de *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*.¹¹

Las plantas medicinales se han utilizado y recetado durante mucho tiempo en diversos países; sin embargo, hay poca información disponible de *Vallesia glabra* (Perlillo) siendo utilizada contra infecciones fúngicas, por ende, el estudio a realizar se enfoca en evaluar la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo)

Problema General

¿El extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo) presenta actividad antifúngica?

Problemas específicos

¿Qué tipos de metabolitos secundarios presentara el extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo)?

¿Las concentraciones de extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo) tendrán actividad antifúngica frente a la *Candida albicans*?

¿Las concentraciones de extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo) tendrán actividad antifúngica frente a la *Aspergillus niger*?

1.2. Antecedentes de la investigación.

Internacionales

- Sandoval PA (2022) determino en el estudio “Caracterización de la actividad antifúngica y anti-virulencia de Especies Arbóreas Nativas de la Patagonia chilena sobre *Candida albicans*” los efectos antifúngicos y antivirales de extractos de plantas de *Azara lanceolata*, *Fuchsia magellanica*, *Lomatiaferruginea*, *Nothofagus betuloides*, *Nothofagus nitida* y *Raphithamnus spinosus*. La actividad del extracto contra la cepa ATCC-10231® resistente a fluconazol se evaluó in vitro. Este estudio muestra que el extracto de *A. lanceolata* tiene un efecto inhibitorio sobre la capacidad de supervivencia de *C. albicans* y junto con extractos de *F. magellanica*, *L. Ferruginea* y *N. nitida* tienen la capacidad de inhibir la formación y adhesión de *C. albicans*.¹²
- Fiallos VE y Reinoso S (2021) efectuaron un estudio sobre la actividad antifúngica del té verde (*Camellia sinensis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) frente a *Candida albicans*; examinaron los efectos antifúngicos de los extractos de té verde y tomillo sobre *Candida albicans*, este se realizó utilizando métodos de tratamiento adecuados: tratamiento con té verde y el tratamiento de tomillo utilizaron concentraciones del 25%, 50%, 75%, 100% mientras que el tratamiento combinado con té verde y tomillo en diferentes proporciones de 50%-50% y 25%-75%, respectivamente, control positivo a usar fue fluconazol (C+), y el control negativo utilizado fue agua destilada (C-). Se encontró que el extracto más efectivo en todo el estudio fue el extracto de tomillo al 100% de concentración con un valor de $22,9 \pm 0,73$ mm, lo que indica una inhibición

cercana al C+ en comparación con *Candida albicans*, asimismo, el extracto de té verde resulto el menos efectivo con una inhibición de $15,8 \pm 0,91$ mm, lo que finalmente indica que hubo una diferencia estadísticamente significativa entre tomillo y C+ ($p = 0,00$); no obstante, en la escala de Duraffour resulto que es muy sensible, al igual que C+.¹³

- Carrión AM (2019) evaluó el efecto antifúngico del aceite esencial de *Plumbago scandens*, extraído por vapor de las partes aéreas (tallo y hojas) y evaluado mediante el método de Kirby Bauer modificado. Donde se prepararon tres diluciones en acetona, se utilizó nistatina como control positivo y acetona como control negativo. La actividad antifúngica se evaluó midiendo el diámetro en mm de la zona de inhibición alrededor del disco de papel. El aceite esencial tiene actividad antifúngica contra *Candida albicans* (ATCC 26790), *Cryptococcus neoformans* (ATCC 14116), *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) y *Trichophyton rubrum* (ATCC28188) en las concentraciones más altas; a 0,125 µg/placa, la concentración más baja no mostró actividad antifúngica contra *Candida albicans*.¹⁴

Nacionales

- Quintanilla CD, Guerrero JA (2018) determinaron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Cun cun) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* estudio in vitro. Las concentraciones de extracto etanólico de hoja de Cun cun fueron: 10%, 20%, 30%, 50% y 100%. Se utilizó gentamicina como control positivo y etanol a 96° como control negativo. Se observó que las concentraciones del 20%, 30%, 50% y 100% mostraron actividad antimicrobiana contra cepas de *S. aureus*, mientras que no hubo presencia de actividad antimicrobiana contra la cepa de *E.coli* Se concluyó que los extractos 50% y 100% tuvieron mayor actividad antibacteriana que el control positivo (gentamicina), mientras que el control negativo (etanol 96°) no tuvo actividad antibacteriana.¹⁵
- Capcha YG, Meza US (2024) investigaron la actividad cicatrizante del gel formulado con extracto etanólico de corteza *Vallesia glabra* (cav.) link “agracejo peruano” en ratones albinos. En el desarrollo de la parte experimental se utilizaron 30 ratones albinos y 100 gramos de corteza de *Vallesia glabra* (Cav.) Link “agracejo peruano” provenientes de la ciudad de Puerto San Francisco, distrito de Camporredondo, Provincia de Luya, departamento de Amazonas. Se utilizó concentraciones de 1%, 3% y 5%, y los ratones se dividieron aleatoriamente en seis grupos. Para analizar la actividad curativa del gel, se aplicó una prueba de cicatrización en la que se utilizó un dinamómetro para evaluar la tensión necesaria para abrir una herida en curación. Se

encontró que la actividad cicatrizante del gel que contenía un 5% de extracto era del 68,5%, la del gel que contenía un 3% de extracto era del 46,1%. y del gel que contenía 1% fue 46.1 % Se concluyó que el gel con 5% de extracto etanólico de corteza de agracejo (*Vallesia glabra* (Cav.) Link) tuvieron mejor rendimiento que los geles con 1% y 3% de extracto de agracejo.¹⁶

- Huamán LM, Muñoz RG (2023) desarrollaron un estudio con el objetivo de evaluar la actividad antifúngica in vitro de extractos etanólicos y metanólicos de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275. Los extractos se obtuvieron por maceración y se sometieron a tamizaje fitoquímico para cotejar metabolitos secundarios; se utilizó la técnica Kirby Bauer para evaluar la resistencia de *C. albicans* ATCC 90028 y *A. niger* ATCC 6275 a extractos de metanol y etanol en concentraciones de 25%, 50% y 75% y se comparó con fluconazol como control. Los resultados se obtuvieron del extracto metanólico de rizomas de cúrcuma., actividad antifúngica extremadamente sensible contra la cepa ATCC 90028 de *C. albicans* en concentraciones del 25%, 50% y 75%. El extracto etanólico de rizoma de cúrcuma frente a la cepa de *A. niger* ATCC 6275 tiene una actividad antifúngica extremadamente sensible en concentraciones del 25%, 50% y 75%, y el fluconazol resultó muy sensible para ambos extractos en el rango de 14.70 – 19.92 mm.¹⁷
- Fernández EL, Rojas JL (2022) evaluaron la actividad antifúngica de la crema a base del extracto metanólico de las flores de *Nerium oleander* L. “laurel rosa” sobre *Candida albicans* ATCC 10231. En el presente trabajo, el grupo vegetal estuvo formado por *Nerium oleander* L. (laurel rosa) y el extracto se obtuvo por maceración y se incorporó a la crema base en concentraciones del 15%, 20% y 25%. La actividad antifúngica se evaluó utilizando métodos de difusión de pozos. Los resultados obtenidos demostraron que según el tamaño de la zona de inhibición la crema al 15% fue de 8.93 ± 0.43 mm, la crema al 20% fue de 10.73 ± 0.33 mm, la crema al 25% fue de 11.28 ± 0.37 mm, los valores fueron los siguientes: Crema base (negativa control) es de $6,11 \pm 0,33$ mm, la terbinafina al 1 % (control positivo) es de $23,46 \pm 0,42$ mm. Además, *Candida albicans* ATCC 10231 es insensible a las cremas base, sensible a todas las concentraciones de cremas preparadas a partir de extractos metanólicos de flores de laurel rosa y muy sensible a la terbinafina. El estudio concluyó que una crema a base de extracto metanólico de flores de *Nerium oleander* L. (laurel rosa) tiene actividad antifúngica contra *Candida albicans* ATCC 10231, pero su actividad es menor que la crema de terbinafina.¹⁸
- Mañuico M, Puma SM (2023) investigaron la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* “SAETILLA” sobre *Candida albicans*.

Demostraron que el extracto es soluble en disolventes polares derivados de alcoholes de cadena corta y agua. Las concentraciones trabajadas fueron: 25%, 50%, 75%, 100% y el grupo control fue fluconazol. Se identificaron las siguientes sustancias: esteroides y terpenoides, compuestos fenólicos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, glucósidos y aminoácidos. Se observó actividad fungicida sensible en concentraciones del 75% (23,99 mm) y del 100% (28,09 mm), donde la concentración del 50% mostró un halo de 18,22 mm, la concentración del 25% mostró un halo de 11,96 mm, mientras el control (fluconazol) tuvo una zona de inhibición de 32,31 mm. Se concluyó que las concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Saetilla* al 75% y 100% tienen actividad similar al control.¹⁹

1.3. Justificación e importancia.

La razón del estudio radica en la falta de investigaciones sobre la *Vallesia glabra* y de cómo se puede aprovechar sus compuestos para dar tratamiento a distintas patologías que podrían beneficiar a poblaciones de bajos recursos. El estudio tiene importancia teórica y social ya que aportará conocimiento científico sobre la *Vallesia glabra* al determinar si posee propiedad antifúngica y, la cual podría ser alternativa de tratamiento de las patologías producidas por *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. El estudio otorgaría una alternativa para la elaboración fármacos los que en su composición contengan compuestos químicos de *Vallesia glabra* que se encuentra en nuestro país, la cual tendría un impacto en la industria farmacéutica al tener un aprovechamiento de nuestros propios recursos de una manera más accesible y económica.

1.4. Objetivos de la investigación.

1.4.1. Objetivo General:

Determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo)

1.4.2. Objetivos Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo)
- Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo) con actividad antifúngica frente a la *Candida albicans*.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo) con actividad antifúngica frente *Aspergillus niger*.

1.5. Marco teórico.

1.5.1. *Vallesia glabra* (Perlillo)

Clasificación taxonomía

- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Scrophulariales
- Familia: Bignoniaceae
- Género: *Vallesia*
- Especie: *Vallesia glabra*
- Nombre Vulgar: Perlillo (*ver anexo 1*)

Descripción de la planta

- Arbusto: puede alcanzar los 5 m de altura, de color verde, forman matorrales densos de 2 a 3 m de altura, delgado, su tallo es recto múltiple, pulvurulento.
- Corteza: al principio suave y con el tiempo se vuelve áspera y agrietada.
- Hojas: son lisas, simples, margen entero, disposición alterna, forma lanceolada a elíptica (8 cm de largo y 2 cm de ancho), acuminadas, y atenuadas en la base. De color verde oscuro a verde esmeralda, coreosas y glabras (sin pelos) en ambas caras.
- Inflorescencia: en cimas paniculadas, opositifolias, paucifloras, más pequeñas que las hojas.
- Flores: diminuta inodora o casi inodora, tubular, de color blanca verdosa, su borde en forma de estrella. Hermafrodita, pentámeras, cáliz de 5 sépalos cortos, ovales triangulares, persistentes, no hay presencia de glándulas en la base; Presencia de gineceo bicarpelar, ovario bicarpelar, bilocular y cada lóculo contiene 4 óvulos.
- Frutos: son drupas colgantes cuyo color es blanco o perlados, translúcido, Aproximadamente 2.54cm de largo y contiene 1-2 semillas.
- Semilla: de forma ovoide, con un color marrón claro a un color blanquecina. Con una longitud surcada. 6-8 mm de largo por 2,5 -3 mm de diámetro.²⁰



Figura 1. Planta de *Vallesia glabra*

Fuente: El autor

Uso en la medicina tradicional

Posee una gran actividad germicida para heridas, y otras infecciones dermatológicas. Se utilizan las hojas molidas o su extracto para bajar la fiebre, la infusión aplicada en baños prolongados sirve para combatir la varicela. La planta completa también sirve en baños contra el sarpullido y es antialérgico. La cocción de cáscara y hojas se toman para calmar la indigestión. Para tratar las úlceras se usa la infusión de ramas. También se utilizan como purgante y febrífugo.²⁰

Distribución

Se encuentra distribuida por América subtropical y tropical, a la altura de 500 msnm aprox. *Vallesia glabra* ocupa una amplia zona que va a lo largo del norte de la Provincia de Córdoba (Argentina) hasta California en Estados Unidos de América. En el Perú se encuentra en: Amazonas, Apurímac, Cajamarca, Ica, La Libertad, Lambayeque, Tumbes.²⁰

1.5.2. Hongos

Los hongos constituyen un gran grupo de organismos, diverso y muy extendido, que incluye a los mohos, las setas y las levaduras, se han descrito unas 80 000 especies, de los cuales menos 400 poseen importancia médica, y menos de 50 especies ocasionan más de 90% de las micosis de humanos y otros animales. Por otro lado, varias especies de hongos son beneficiosos para el ser humano. Se encuentran en la naturaleza y son esenciales para la degradación y el reciclado de materia orgánica. Diversos realmente mejoran la calidad de vida de los humanos al contribuir a la producción de alimentos y bebidas. Algunos han aportado metabolitos bioactivos secundarios y útiles en la medicina como los antibióticos en el caso de la penicilina, y los inmunodepresores como las ciclosporinas. Todos los hongos son microorganismos eucariontes y cada célula fúngica dispone de por lo menos un núcleo y membrana nuclear, retículo endoplásmico, mitocondrias y aparato secretor. Casi todos son aeróbicos obligados o facultativos. Las infecciones producidas por hongos son las micosis; donde casi todos de los hongos patógenos son exógenos; la mayor tasa de aparición de micosis es conocidas como candidiasis y dermatofitosis, son causadas por hongos que forman parte de la flora microbiana normal o se pueden adecuar para sobrevivir en el huésped humano. Estas enfermedades (Figura 1) pueden clasificarse por conveniencia: superficiales, cutáneas, subcutáneas, sistémicas y oportunistas.²¹

Categoría	Micosis	Hongos causales
Superficiales	Pitiriasis versicolor Tiña negra Piedra blanca Piedra negra	Especies de <i>Malassezia</i> <i>Hortaea werneckii</i> Especies de <i>Trichosporon</i> <i>Piedraia hortae</i>
Cutáneas	Dermatofitosis Candidosis de piel, mucosa o uñas	Especies de <i>Microsporum</i> , <i>Trichophyton</i> y <i>Epidermophyton floccosum</i> <i>Candida albicans</i> y otras especies de <i>Candida</i>
Subcutáneas	Esporotricosis Cromoblastomosis Micetoma Feohifomicosis	<i>Sporothrix schenckii</i> <i>Phialophora verrucosa</i> , <i>Fonsecaea pedrosoi</i> , y otras <i>Pseudallescheria boydii</i> , <i>Madurella mycetomatis</i> , y otras <i>Exophiala</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohilum</i> y otros mohos dematiáceos
Endémicas (primarias, sistémicas)	Coccidioidomosis Histoplasmosis Blastomycosis Paracoccidioidomosis	<i>Coccidioides posadasii</i> y <i>Coccidioides immitis</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
Oportunistas	Candidosis sistémica Criptococosis Aspergilosis Hialohifomicosis Faehifomicosis Mucormicosis (zigomicosis) Peniciliosis	<i>Candida albicans</i> y otras especies de <i>Candida</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> y <i>Cryptococcus gattii</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> y otras especies de <i>Aspergillus</i> Especies de <i>Fusarium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Trichosporon</i> y otros mohos hialinos <i>Cladophialophora bantiana</i> ; especies de <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohilum</i> y otros mohos dematiáceos Especies de <i>Rhizopus</i> , <i>Absidia</i> , <i>Cunninghamella</i> , y otros zigomicetos <i>Penicillium marneffei</i>

Figura 2. Las micosis principales y los hongos que la causan

Fuente:

https://www.academia.edu/51148273/Jawetz_Melnick_y_Adelberg_Microbiolog%C3%ADa_m%C3%A9dica_25a_edici%C3%B3n

Características

- No poseen movilidad propia, se desarrollan en suelos, en las superficies, troncos o materia orgánica en descomposición, dependiendo de sus preferencias.
- Las células de los hongos son eucariotas, poseen un núcleo celular. Presentan una pared celular rígida similar al de las células vegetales, aunque en lugar de estar compuesta de celulosa, está compuesta de quitina. Tienen forma alargada, que pueden contener diversos núcleos, y poseen vacuolas, aunque no cloroplastos, por lo cual no pueden realizar fotosíntesis.
- Su crecimiento se da a manera de hifas, que son estructuras cilíndricas y uniformes cuyo tamaño va de diminutos micrómetros hacia varios centímetros de longitud, y pueden superponerse en un proceso de ramificación o bifurcación. Conforme las hifas aumentan, conforman una masa enmarañada o una red con aspecto de tejido llamado micelio.
- No ingieren alimento, lo digieren en el cuerpo igual a los animales. En vez de ello, infiltran una fuente alimenticia y segregan enzimas digestivas en ella. La digestión sucede fuera del cuerpo. Descomponen las moléculas complejas a unas simples para facilitar su absorción.
- Su reproducción se da por medio de esporas; estas son células procreadoras microscópicas que pueden madurar hasta ser nuevos organismos. Normalmente se producen en hifas zonas especializadas o en cuerpos fructíferos. Las estructuras donde se crean las esporas se denominan esporangios. Las hifas aéreas de unos cuantos hongos fabrican esporas en grandes estructuras reproductivas complejas denominadas cuerpos “fructíferos”.²²

Estructura

Las colonias de los hongos se caracterizan como estructuras vegetativas debido que están compuestas por células que intervienen en el crecimiento y catabolismo de la especie.²³

1) Hongos Filamentosos (Mohos)

Están formadas por las unidades básicas del hongo, nombradas hifas, las cuales pueden tener forma de tabiques (septos) que la dividen en forma de una célula nucleada. Cuando hay un ambiente óptimo para su desarrollo, las hifas llegan a formar un micelio, el cual se puede apreciar a simple vista.²³

2) Levaduras

Son hongos unicelulares no filamentosos de forma ovalada o circular, y cuando se reproducen lo pueden hacer por brotación o fisión. A las levaduras que se reproducen mediante brotación, a estas se les desarrolla una protuberancia en la periferia de su estructura, que después se alarga y con ello también el núcleo hasta llegar a su división, trasladándose hacia el brote hasta que la protuberancia llega a separarse así formando otra célula. Hay algunas especies que producen el brote, sin embargo, esta no se llega a disgregar para crear una nueva célula, sino que establecería parte de la estructura de la levadura, a esto se denomina pseudohifas.²³

Las levaduras por fisión se disgregan de forma uniforme para así poder crear dos células nuevas. Cuando se da la fisión de la célula parenteral se alarga, su núcleo se parte y se produce dos células hijas. Al momento que hay aumento del número de células en un medio sólido forman una colonia semejante a las colonias bacterianas.²³

Tipos de nutrición

- A) **Hongos Saprófitos:** su nutrición se da por la descomposición de residuos de materia orgánica de otros especímenes sea específica o de cualquier en general.
- B) **Micorrizógenos:** se nutren por medio de una relación simbiótica con las plantas, se asientan en las raíces e intercambian agua y nutrientes minerales con ellas, producida por los hongos, a cambio de vitaminas y carbohidratos que los hongos no son capaces de sintetizar.
- C) **Liquenizados:** su nutrición se da por relación simbiótica con algas o cianobacterias cuya relación es muy cercana que se les puede considerar un solo ser vivo. Son similares a los micorrizógenos.
- D) **Parásitos:** la nutrición de estos hongos se da manera directa del cuerpo de otros organismos de forma superficial o interna, lo que puede causar varios daños leves o mortales a dicho ser vivo.²²

Reproducción

La reproducción se da dos maneras (sexual y asexual), estas se dan siempre por medio de la producción de esporas. Las esporas son formas resistentes al medio ambiente que, al encontrar las condiciones óptimas, germinan y dan origen a un nuevo hongo. El crecimiento de las hifas, una vez germinadas las esporas, puede ser muy veloz.²²

1) Reproducción Asexual

En los hongos unicelulares, por ejemplo, en las levaduras este tipo de reproducción se da por medio de un proceso denominado gemación, el cual consiste en la formación de yemas que crecen desde la célula progenitora. Por otro lado, en los hongos multicelulares, las esporas descritas como conidios se producen mediante el proceso llamado mitosis, que tiene lugar en hifas especializadas llamadas conidióforos y posteriormente se liberan en el agua o en el aire. Cuando los hongos requieren esparcirse de manera rápida utilizan este tipo de reproducción.²²

2) Reproducción Sexual

Diversas especies de hongos usan la reproducción sexual mediante varias formas de apareamiento. La mayor parte de las células de los hongos contienen núcleos haploides. El proceso consiste en:

- A) Al momento que se juntan las hifas de dos tipos de apareamiento genéticamente compatible y se unen sus citoplasmas mediante el proceso de plasmogamia.
- B) El resultado es una célula que contiene dos núcleos haploides.
- C) La célula por medio del proceso de la mitosis genera otras células que tienen dos núcleos. Durante el proceso se fusionan los dos núcleos haploides y por el proceso conocido como cariogamia, da como resultado una célula que tiene un núcleo diploide llamado núcleo de cigoto.²²

Las hifas que tienen dos núcleos distintos genéticamente pero sexualmente compatibles en el interior de cada célula se llaman dicarióticas. Mientras las hifas que tienen únicamente un núcleo por célula se llaman monocariotas.²²

Clasificación

A lo largo del tiempo la clasificación de los hongos está en constante debate, conforme se van aplicando y desarrollando nuevas técnicas de reconocimiento (bioquímicas) esta se va modificando. La clasificación son los siguientes filos: ²²

1. **BASIDIOMYCOTA (BASIDIOMICETOS):** la reproducción sexual forma cuatro basidiósporas hijas, sostenidos por un basidio con figura de clava. Las hifas tienen septos compuestos.²¹
2. **ZYGOMYCOTA (CIGOMICETOS):** la reproducción sexual se da mediante los esporangios, dando como resultado una cigospora, la cual tiene la capacidad de

resistir condiciones adversas por un largo tiempo hasta que puedan germinar. Las hifas vegetativas poseen tabiques escasos.^{21,22}

3. **ASCOMYCOTA (ASCOMICETOS):** su reproducción sexual se requiere un saco o asca donde se produce la cariogamia y la meiosis, formando ascosporas. La reproducción asexual se da a través de conidios. Los mohos poseen hifas tabicadas.²²
4. **CHYTRIDIOMYCOTA (CHITRIODIOMICETOS):** abarca hongos microscópicos y primitivos, habitualmente acuáticos y se generan por esporas flageladas (zoosporas).²²

1.5.3. Genero *Candida*

Se ha establecido que el grupo más importante de hongos oportunistas son las especies del género *Candida*. Las especies de este género son la tercera causa más común de infecciones septicémicas, superando a cualquier patógeno gramnegativo. Si bien se han descrito más de 100 especies del género *Candida*, sólo unas pocas se han asociado con infecciones clínicas. *C. albicans* es la especie que se aísla con más frecuencia de muestras clínicas y típicamente representa del 90% al 100% de los aislados de muestras de mucosas y del 40% al 70% de los aislados de pacientes con sepsis, dependiendo del servicio clínico y la patología subyacente del paciente. Aproximadamente el 95% de estos últimos corresponden a cuatro especies: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*.

Todas las especies del género *Candida* crecen como células levaduriformes ovaladas que forman yemas o blastoconidios; excepto *C. glabrata*, las especies que pertenecen al género *Candida* producen también pseudohifas e hifas verdaderas. In vitro, la mayoría de las especies de este género forman colonias lisas, en forma de cúpula, de color blanco a crema. Las especies del género *Candida* colonizan a los humanos y otros animales de sangre caliente, por lo que aparecen tanto en humanos como en ambientes naturales. El principal sitio de invasión es el sistema digestivo desde la boca hasta el recto. También se desarrollan como comensales en la vagina y la uretra, en la piel y debajo de las uñas de las manos y los pies.

La principal fuente de infección por especies de *Candida* (desde daños superficiales en las mucosas y la piel hasta la diseminación sanguínea) es el propio paciente. Esto significa que la mayoría de los tipos de candidiasis son infecciones endógenas en las que la microflora comensal aprovecha la oportunidad para causar infección. La transmisión exógena de *Candida* también provoca algunos tipos de candidiasis.

Ejemplos de dicha transmisión incluyen soluciones de irrigación, líquidos nutricionales intravenosos, transductores de presión vascular, válvulas cardíacas y córneas contaminadas. Se ha demostrado que estas levaduras son capaces de transmitirse de los trabajadores de la salud a los pacientes y entre pacientes, especialmente en entornos de cuidados intensivos.²⁴



Figura 3. Colonias blancas de *Candida spp* en agar de Sabouraud.

Fuente: <https://drive.google.com/file/d/1EZhx11tUY-jE8vRPW7z98v11E5ZdD948/view>

Candida albicans

Es un hongo que pertenece al filo Ascomycota. Tiene un genoma diploide y se reproduce asexualmente mediante gemación. Es dimórfico, por lo que responde de manera diferente a los estímulos ambientales. Esta propiedad le permite evitar los mecanismos de defensa asociados con la inmunidad celular del huésped.²⁵ Se encuentra por todo el mundo y también es un miembro común del microbiota humano (cavidad bucal, garganta, intestinos, vagina y piel) y no es dañino en condiciones saludables. Sin embargo, puede propagarse en las membranas mucosas o invadir otros tejidos y provocar enfermedades. En las mucosas provoca enfermedades como la candidiasis orofaríngea, la candidiasis esofágica, la candidiasis vulvovaginal y la candidiasis cutánea. También puede provocar infecciones invasivas como: candidiasis invasiva, candidemia (presencia de *C. albicans* en el torrente sanguíneo), en corazón, ojos, huesos, órganos internos provocando una alta mortalidad; siendo los pacientes enfermos gravemente e inmunocomprometidos se ven especialmente afectados.²⁶

A pesar de la terapia antimicótica agresiva, la tasa de mortalidad general por candidiasis invasiva teniendo una ratio del 20% al 50%. La estancia hospitalaria es de aproximadamente 2 a 4 semanas y puede durar hasta 2 meses dependiendo de la enfermedad subyacente.²⁶

1.5.4. Genero *Aspergillus*

Las especies del género *Aspergillus* se distribuyen por todo el mundo. Sus conidios suelen encontrarse en el aire, el suelo y la materia orgánica en descomposición. En entornos hospitalarios, se encuentran en el aire, en las duchas, en los tanques de agua y en las plantas en macetas. Por lo tanto, las conidias se inhalan constantemente. El sistema digestivo es la vía de entrada más común y relevante para la infección por aspergilosis.

Se han descrito aproximadamente 19 especies de *Aspergillus* capaces de causar infecciones en humanos, aunque la mayoría de las infecciones son causadas por *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*. Los estudios taxonómicos moleculares han demostrado que todas las especies mencionadas anteriormente son en realidad complejos de especies que contienen especies crípticas indistinguibles según criterios morfológicos, algunas de las cuales pueden tener importantes perfiles de resistencia a antimicóticos y rasgos patogénicos. La exposición ambiental a *Aspergillus* puede causar reacciones alérgicas en pacientes hipersensibles o enfermedades pulmonares devastadoras, invasivas o generalizadas en personas gravemente inmunocomprometidas.

Las especies del género *Aspergillus* crecen en formas miceliales hialinas en cultivo. En el examen macroscópico, las colonias de *Aspergillus* pueden ser de colores negros, marrones, verdes, amarillos, blancos o de otro color en función de la especie y de las condiciones de desarrollo. La apariencia de la colonia puede guiar el reconocimiento inicial, aunque el reconocimiento decisivo precisa del estudio microbiológico de las hifas y la estructura de la cabeza conidial.

Los síndromes clínicos de aspergilosis en la forma broncopulmonar se puede manifestar asma, infiltrados pulmonares, eosinofilia periférica, incremento de las concentraciones séricas de inmunoglobulina E y señal de hipersensibilidad a los antígenos de *Aspergillus*. La colonización de las especies de *Aspergillus* en los senos paranasales y las vías respiratorias inferiores, ocasiona aspergilosis bronquial obstructiva y aspergiloma verdadero.²⁴

Aspergillus niger

Las especies de *Aspergillus niger* poseen cabezas conidiales negras, son hifomicetos hialinos anamórficos y no tienen etapas teleomórficas conocidas. *A. Niger* es cosmopolita y está muy extendido: se desarrolla aeróbicamente sobre materia orgánica. Esta especie es un contaminante común de varios sustratos. Se encuentra en el suelo, las hojas caídas y el material vegetal en descomposición. Puede contaminar la carne y los huevos, provocando un deterioro gradual; Se puede encontrar incluso en ambientes marinos y helados, pero normalmente prefiere suelos cálidos y secos. Aunque *Aspergillus niger* se considera un contaminante inofensivo y generalizado, puede causar enfermedades oportunistas en humanos en circunstancias raras y excepcionales.

A. niger es un hongo mesófilo: la temperatura óptima para el crecimiento del hongo es de 20 a 40°C, y un buen crecimiento es de 37°C. Puede sobrevivir a temperaturas de hasta 60°C. Sin embargo, *Aspergillus niger* es uno de los microorganismos más importantes utilizados en biotecnología y fermentación industrial. Produce muchas sustancias diferentes, incluidas enzimas como la alfa-amilasa, así como ácidos orgánicos como el ácido cítrico, el ácido fumárico y el ácido oxálico.

Los riesgos para la salud asociados a su exposición a son bien conocidos, especialmente en lo que respecta a los síntomas de las vías respiratorias superiores e inferiores. *Aspergillus niger* está asociado con alergias tipo I, rinitis y asma, así como con sinusitis alérgica.²⁷

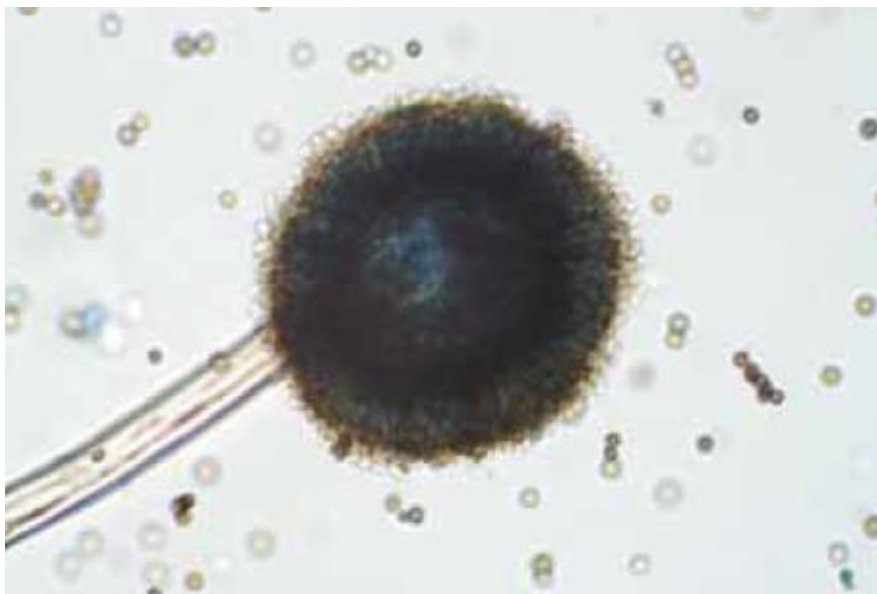


Figura 4. *Aspergillus niger*, cabeza globosa, fíalides radiadas, esporas oscuras.

Fuente: <https://drive.google.com/file/d/1EZhxl1tUY-jE8vRPW7z98v1IE5ZdD948/view>

1.5.5. Fármacos antifúngicos

A. POLIENOS

La estructura básica de los polienos consiste en un gran anillo de lactona con una cadena lipófila rígida que contiene de tres a siete dobles enlaces y una sección hidrófila flexible que contiene un número variable de grupos hidroxilo. La anfotericina B y sus formas lipídicas son fármacos antimicóticos del grupo de los macrólidos poliénicos, utilizados en el tratamiento de enfermedades fúngicas graves y potencialmente mortales. Otro polieno, la nistatina, se utiliza como medicamento tópico.²⁴ La anfotericina B se junta al ergosterol y altera la permeabilidad celular creando poros de unión a anfotericina B en la membrana celular. Es activo contra levaduras clínicamente importantes (*Candida albicans*), hongos patógenos endémicos (*Histoplasma capsulatum*) y mohos patógenos (*Aspergillus fumigatus*).²⁸

B. ANTIMETABOLITOS

El único fármaco antimicótico comercializado como antimetabolito es la flucitosina (5 fluorocitosina [5-FC]). Es un análogo de pirimidina fluorado que tiene propiedades antifúngicas al interferir con la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) y proteínas en las células fúngicas.²⁴ El rango de su actividad se limita a determinados hongos del género *Candida* y a mohos dematiáceos que ocasionan la cromoblastomycosis.²⁸

C. AZOLES

Los compuestos de azol son compuestos sintéticos que pueden clasificarse como imidazol o triazol según la cantidad de átomos de nitrógeno en el anillo de azol de cinco miembros. El efecto antifúngico de los fármacos azólicos se debe a una disminución en la síntesis de ergosterol debido a la inhibición de las enzimas del citocromo P450 de los hongos. La toxicidad selectiva de los fármacos azoles se debe a su mayor afinidad por las enzimas fúngicas del citocromo P450 en comparación con las enzimas humanas. El imidazol tiene una selectividad menor que los compuestos de triazol. Los imidazoles incluyen a: cetoconazol, miconazol y clotrimazol. Los dos últimos fármacos actualmente sólo se utilizan para tratamiento tópico. Los compuestos de triazol incluyen a: itraconazol, fluconazol, voriconazol y posaconazol.²⁸

D. EQUINOCANDINAS

Las equinocandinas son grandes péptidos cíclicos unidos a un ácido graso de cadena larga. Estos fármacos son activos contra *Candida* y *Aspergillus*, pero no contra *C. neoformans*. Están disponibles únicamente en forma intravenosa. Actúan sobre la pared del hongo inhibiendo la síntesis de β (1-3)-glucanos, lo que

provoca que la pared celular del hongo se fragmente y muera. Son muy bien tolerados, rara vez se informan efectos secundarios gastrointestinales leves y enrojecimiento. Caspofungina, micafungina y anidulafungina son los únicos medicamentos aprobados en esta categoría.²⁸

E. ALILAMINAS

Estos fármacos inhiben la enzima escualeno epoxidasa, reduciendo los niveles de ergosterol y aumentando el escualeno en la membrana celular del hongo, provocando su propia toxicidad. El grupo de antifúngicos alilamina incluye terbinafina, que tiene efectos sistémicos, y naftifina, un compuesto tópico. La terbinafina es un fármaco antifúngico lipófilo de amplio espectro con actividad contra los dermatofitos.²⁴

F. GRISEOFULVINA

La griseofulvina es un medicamento oral que se usa para tratar infecciones causadas por dermatofitos. Se cree que inhibe el crecimiento de los hongos al interactuar con los microtúbulos de las células fúngicas, lo que lleva a la inhibición de la mitosis.²⁴ Se prescribe en forma microcristalina a dosis de 1 g/día. Su absorción se da mejor cuando es administrado con alimentos grasos.²⁸

1.6. Marco conceptual.

- **Concentración mínima inhibitoria (CMI):** es la concentración más baja que necesita una sustancia para evitar el desarrollo de un microorganismo.
- **Hongos:** microorganismos eucarióticos que poseen paredes rígidas, no fototrópicos.
- **Medio de cultivo:** mezcla líquida que contiene diversos nutrientes que favorecen el desarrollo de microorganismos.²⁹
- **Halo de inhibición.** es un resultado cualitativo, cuyo diámetro será directamente proporcional a la potencia del antifúngico frente al hongo en cuestión e inversamente proporcional a la concentración inhibitoria mínima (CIM) del agente antifúngico.³⁰
- **Maceración:** proceso extractivo mediante el cual se pone en contacto un solvente con el material sólido (muestra vegetal) durante un tiempo con la finalidad de extraer los principios activos de la muestra.³¹
- **Metabolitos secundarios:** son compuestos químicos que provienen de los metabolismos primarios, que cumplen múltiples funciones no vitales en las plantas. Igualmente, son integrantes significativos como los principios activos de medicamentos. Entre los fundamentales se encuentran: flavonoides, alcaloides, glicósidos, taninos, resinas, etc.³²

- **Antifúngico:** alguna sustancia con la capacidad producir una modificación de las estructuras de una célula fúngica que logra la inhibición de su desarrollo, modificando su viabilidad o capacidad de supervivencia, bien directa o indirectamente.³³
- **Unidades formadoras de colonias (UFC):** son una sola célula viable o un conjunto de células que forman una colonia visible en condiciones de crecimiento específicas.³⁴

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1. Tipo, diseño y nivel de la investigación

2.1.1. Tipo de investigación

Dado que se avanzó con material, información, reactivos y equipos de laboratorio a la par que se van obteniendo la información buscada el tipo de investigación es transversal.

2.1.2. Diseño de la investigación

Con la información hallada acerca del contenido de los metabolitos secundarios y la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* que se consiguieron después de la realización de diversos procesos dan a informar las características del material estudiado, la investigación es experimental.

2.1.3. Nivel de la investigación

El estudio realizado es de naturaleza básica, debido que al terminar la investigación la información obtenida dará las bases para otras investigaciones, que permitirán aprovechar la especie *Vallesia glabra*.

2.2. Lugar de la investigación

Laboratorio de Química orgánica I y II de la facultad de Farmacia y bioquímica de la UNICA y el laboratorio de Análisis clínico I y II/ Bioquímica I y II de la facultad de Ciencias biológicas de la UNICA.

2.3. Materiales de trabajo

2.3.1. Materiales de laboratorio.

- Probetas 10 ml, 50 ml y 100 ml
- Fiolas 50 ml
- Vasos de precipitado 50 ml, 100 ml, 250 ml y 500 ml
- Agitadores de vidrio
- Espátulas
- Placas Petri
- Embudos de vidrio

- Luna de reloj
- Micropipetas de 100 ul
- Micropipetas de 1000 ul
- Pipetas de 1 ml, 5 ml y 10 ml
- Propipetas
- Gradillas
- Tubos de ensayos
- Asa de siembra
- Sacabocados
- Mecheros
- Calibrador vernier
- Frascos de vidrio

2.3.2. Equipos de laboratorio.

- Balanza Analítica
- Cámara de flujo laminar
- Refrigeradora
- Autoclave
- Incubadora
- Estufa
- Cocinilla eléctrica
- Molino de mano
- Lámpara fluorescente

2.3.3. Reactivos.

- Agua destilada
- Etanol 96°
- Agar Dextrosa Sabouraud

- Hidróxido de sodio
- Gelatina
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagener
- Cintas de Mg
- Ácido clorhídrico
- Cloruro de sodio
- Cloruro férrico
- Cloroformo
- Ácido sulfúrico
- Anhidrido acético
- Solución de McFarland
- Solución salina

2.3.4. Materiales biológicos.

- Extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo)
- Cepas de hongos: *Aspergillus niger* y *Candida albicans*

2.3.5. Otros.

- Guantes quirúrgicos
- Mascarillas
- Papel filtro
- Rollos papel aluminio
- Paquete de papel tisú
- Rollo de papel toalla
- Papel Kraft
- Hisopos estériles

2.4. Hipótesis y variables.

2.4.1. Hipótesis

Hipótesis general

Existe actividad antifúngica en el extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo).

Hipótesis específicas

HE1: Existirá diferentes metabolitos secundarios en el extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo).

HE2: Las concentraciones del extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo) tendrá actividad antifúngica frente a la *Candida albicans*

HE3: Las concentraciones del extracto etanólico de *Vallesia glabra* (Perlillo) tendrá actividad antifúngica frente a la *Aspergillus niger*

2.4.2. Variables

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE		
VARIABLE	INDICADOR	ÍNDICE
Extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo)	Metabolitos secundarios	Reacción de coloración y precipitación. Concentración del extracto
VARIABLE DEPENDIENTE		
VARIABLE	INDICADOR	ÍNDICE
Actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo)	Método de difusión en agar	Escala de Durafford: diámetro del halo en mm
	Concentración mínima inhibitoria	UFC/ml

2.5. Población y muestra

2.5.1. Población

La población está conformada por 1.5 kg de hojas de *Vallesia glabra* que crecen en el distrito de los Aquijes, provincia de Ica, departamento de Ica-Perú

2.5.2. Muestra

La muestra está conformada por el extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo) que se recolectó en el distrito de los Aquijes, provincia de Ica, departamento de Ica-Perú durante el mes de octubre del 2024.

2.5.3. Criterio de inclusión

- Hojas de buena apariencia y en buen estado.
- Placas que poseen cepas de *Candida albicans* o *Aspergillus niger* con las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra*.

2.5.4. Criterio de exclusión

- Hojas picadas, con presencia de corte y en mal estado.
- Placas Petri que contengan en su estructura daño en el curso del proceso de incubación.
- Placas Petri con presencia de contaminación por otros agentes después del proceso de incubación.

2.6. Métodos, técnicas y procedimientos para la recolección de datos

2.6.1. Recolección y tratamiento de la muestra vegetal

Las hojas de *Vallesia glabra* fueron recolectadas de forma manual en el distrito de los Aquijes, provincia de Ica, departamento de Ica-Perú las cuales fueron colocadas en bolsas de papel kraft para su traslado. Se seleccionaron las hojas que se encontraron en mejor condición, limpiadas con agua potable para seleccionarlas y se continuó limpiando con agua destilada y se procedió a secarlas. Luego del proceso de selección las hojas se separarán de la planta mediante el empleo de una tijera, después pasaron a ser acondicionadas y estabilizadas a temperatura ambiente y bajo sombra durante una semana en el laboratorio de química orgánica I y II de la facultad de farmacia y bioquímica. Una vez estabilizadas se procedió a la molienda de las hojas en un molino de mano, para colocarlo en un frasco cubierto con papel aluminio, donde se

conservó debidamente hasta el momento de su uso; esto se realizó en el laboratorio de química orgánica I y II de la facultad de farmacia y bioquímica.

2.6.2. Preparación del extracto etanólico y secado de la muestra

Para la obtención del extracto etanólico se procedió añadir en un frasco de vidrio cubierto en la parte externa de papel aluminio parte del polvo de la molienda de las hojas de *Vallesia glabra*, seguido se añadió 2 litros de alcohol 96° y se dejó macerar durante siete días, donde cada día se agito el frasco para facilitar y mejorar el proceso de extracción. Culminada la maceración se procedió a secar la muestra en una estufa a una temperatura de no mayor de 40°. El desarrollo de esta actividad se realizó en el laboratorio de química orgánica I y II de la facultad de farmacia y bioquímica.

2.6.3. Screening fitoquímico

El screening fitoquímico (marcha fitoquímica) se realizó con el objetivo de poder determinar la existencia de metabolitos secundario del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra*. Esta actividad se realizó en el laboratorio de química orgánica I y II de la facultad de farmacia y bioquímica. Se realizaron las siguientes identificaciones:

A. Determinación de Alcaloides

Reactivo de Dragendorff: a 3 ml del extracto etanólico se le adiciona 3 gotas del reactivo, donde el resultado es positivo con la generación de un precipitado cuyo color es anaranjado.

Reactivo de Mayer: a 3 ml del extracto etanólico se le agrega 3 gotas del reactivo, donde el resultado es positivo con la formación de un precipitado color blanco lechoso.

Reactivo de Wagner: a 3 ml del extracto etanólico se le añade 3 gotas del reactivo, el resultado es positivo con la formación de un precipitado cuyo color es marrón.³⁵

B. Determinación de Saponinas

Prueba de la espuma: a 3ml de extracto etanólico se le añade 1ml de H₂O destilada, se procede agitar durante 2 minutos. El resultado es positivo con la formación de espuma persistente por 30 minutos.³⁵

C. Determinación de Cumarinas

Reactivo de NaOH 10%: a 3 ml del extracto se le cubre con papel filtro humedecido del reactivo. El material se pone en baño de agua en estado de

ebullición durante algunos minutos, luego se retira el papel y se expone a luz ultravioleta. El resultado es positivo con una coloración amarilla-verdosa o azul.³⁵

D. Determinación de Flavonoides

Reacción de Shinoda: a 3 ml de extracto se le adiciona un pedazo de cinta de Mg se agita y después de 5 minutos se agrega 1 gota de HCl. La reacción es positiva cuando se colorea magenta, crimson o rojo.³⁵

E. Determinación de Taninos

Reacción de gelatina-sal: se usaron 3 tubos de ensayo, donde a cada uno 2 ml del extracto. Al primer tubo se le agrega 5 gotas de NaCl al 5%; para el segundo tubo se adiciona 5 gotas de gelatina 1% y al tercer tubo se le agrega 5 gotas de NaCl al 5% junto con 3 gotas de gelatina 1% (reactivo gelatina-NaCl). La formación de un coloide en el tercer tubo, o en el segundo y tercer tubo, el resultado es positivo. Si solo ocurre se da en el primer tubo el resultado será negativo.³⁵

F. Determinación de Compuestos fenólicos

Reactivo de Cloruro férrico 1%: a 3 ml del extracto se le añade 5 gotas del reactivo, se forma una coloración verde, azul o negra.³⁵

G. Determinación de Triterpenoides y Esteroides

Reacción Liebermann-Burchard: a 1 ml del extracto agregar 1 ml de cloroformo, luego añadir 3 gotas del reactivo de Liebermann-Burchard (una gota de ácido sulfúrico + 1ml de anhídrido acético), se dará una coloración azul, verde o azul verdoso para esteroides y coloración rosada a purpura para triterpenoides.³⁵

2.6.4. Procedimientos para la evaluación de la actividad antifúngica

A. Concentraciones del extracto etanólico a utilizar para determinar la actividad antifúngica

Las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo) que se utilizaron para realizar la determinación de la actividad antifúngica fueron las siguientes: 100%, 75 %, 50% y 25%.

La elaboración de las diluciones a partir del extracto etanólico se usó alcohol 96° y dichas diluciones se realizaron de la siguiente forma:

- 100%: se vertió 5 ml del extracto etanólico en un frasco ámbar.
- 75%: se vertió 3.75 ml del extracto etanólico en frasco ámbar y se completó con 1.25 ml de alcohol 96°.
- 50%: se vertió 2.5 ml del extracto etanólico en frasco ámbar y se completó con 2.5 ml de alcohol 96°.

- 25%: se vertió 1.25 ml del extracto etanólico en frasco ámbar y se completó con 3.75 ml de alcohol 96°.

Esta actividad se realizó en el laboratorio de química orgánica I y II de la facultad de farmacia y bioquímica.

B. Obtención de las cepas de hongos

Las cepas clínicas de *Candida albicans* y *Aspergillus niger* fueron obtenidos del Centro de investigación, capacitación y asesoría – CICA de la ciudad de Ica.

C. Preparación de los inóculos

Los cultivos de las levaduras se resuspendieron en suero fisiológica y las suspensiones se ajustaron a una concentración de 10^6 levaduras/ml. En el caso de los hongos filamentosos el inóculo se basó en una suspensión de 10^6 conidias/ml.³⁶

D. Determinación de la actividad antifúngica

Para la determinación de la actividad antifúngica se utilizó el método de difusión en agar para ambas cepas. Se uso 20 ml de agar dextrosa Sabouraud fundido a una temperatura de 45°C las cuales fueron asépticamente mezclados con 1 ml de la suspensión fúngica en las placas petri de dimensiones de 90 mm x 15 mm. Posteriormente se realizaron 3 pozos equidistante de 11 mm de diámetro con un sacabocado estéril (esterilizado con alcohol y a la llamada después de cada pozo) en donde se inoculo 0,1 ml del extracto a diferentes concentraciones. A temperatura ambiental se pusieron a reposar por un tiempo de 60 minutos y se pusieron a incubar a una temperatura de 37°C por 24 horas para *Candida albicans* y 72 horas para *Aspergillus niger*. Después se realizó la lectura, registrando el diámetro de los halos de inhibición. Las pruebas se hicieron por triplicado con un grupo control (Fluconazol) y un blanco (alcohol en que esta disuelto el extracto).^{37,38} Esta actividad se realizó en el laboratorio de Análisis clínico I y II/ Bioquímica I y II de la facultad de Ciencias biológicas.

• Lectura e interpretación de los resultados de la determinación de la actividad antifúngica

La lectura se llevó mediante la inspección visual de cada placa. Se efectuó tomando el registro en milímetro de los halos de inhibición del crecimiento del hongo. Finalmente se evaluaron los resultados mediante la escala de Durafford, que

consiste en determinar cualitativamente el efecto inhibitorio *in vitro*, según diámetro de inhibición:

- Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible = +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible = ++) para un diámetro comprendido entre 14 y 20 mm.
- Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm.³⁹

E. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* “Perlillo”

Para poder determinar la CMI del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* se utilizó el método de macrodilución. Se ejecutaron diluciones en tubos de ensayo que contenían caldo glucosado adicional con las concentraciones del extracto etanólico de *Vallesia glabra* (25%, 50%, 75% y 100%). Luego se pusieron en un nuevo grupo de tubos de ensayo 0.8 ml de cada una de las concentraciones, asimismo al nuevo grupo de tubos se les adiciono dos tubos de control (uno con 0.8ml de fluconazol y 0.8ml de etanol).

Con la ayuda de un asa microbiológica se cogieron del tubo que contenía las cepas jóvenes de *A. niger* o *C. albicans* activas, colonias iguales morfológicamente y fueron colocadas en un tubo con 5 ml de caldo glucosado para ser equiparados con el estándar 0,5 de McFarland, después se pusieron a reposar por 15 minutos. De ahí se tomaron 0.2ml de esta suspensión y se colocaron en los nuevos 6 tubos estériles preparados, se combinaron con suavidad con el fin de uniformizar el contenido de los tubos y se incubó a 37°C por 24 horas.

Pasado este tiempo de incubación, se tomaron 0.1ml de cada tubo y se colocaron en placas Petri con medio agar dextrosa Sabouraud para posteriormente ser estriados con un asa de Drigalsky. Las placas sembradas se pusieron a incubar por 48 horas a una temperatura de 37°C, donde se realizaron 10 repeticiones por concentración. Luego se pasó a examinar las placas y se registró el número de colonias, donde CMI quedó definida como la concentración más baja donde se registró el número de unidades formadoras de colonias (UFC) dentro de los intervalos contables.⁴⁰⁻⁴²

El intervalo contable aceptado para Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de *Aspergillus niger* y *Candida albicans* según la norma ISO 7954 es el siguiente:

- *Aspergillus niger*: 30-300 UFC por placa.
- *Candida albicans*: 25-250 UFC por placa.⁴³

Esta actividad se realizó en el laboratorio de Análisis clínico I y II/ Bioquímica I y II de la facultad de Ciencias biológicas.

2.7. Análisis estadístico e interpretación de los resultados

Obtenido los resultados estos fueron procesados e interpretados usando los métodos estadísticos ANOVA y Tukey, para ello se usó el programa MINITAB STATISTICAL SOFTWARE 22.

Al momento que se aplicó los métodos estadísticos ANOVA y Tukey se tuvo en cuenta un nivel de significancia de $p < 0,05$ para poder estipular si hay diferencia significativa entre las medias de los diámetros de los halos de inhibición de los grupos de tratamiento y los controles, como si hay diferencia significativa entre las medias de las UFC/ml de los grupos de tratamiento y los grupos control.

2.8. Aspectos éticos

Para la redacción y ejecución del presente trabajo de investigación se consideró todos los aspectos éticos propios e inherente a toda investigación en relación al aprendizaje científico que permite acceder al desarrollo de la sociedad, evitando factores que puedan conducir algún conflicto de interés que varíen los objetivos expuestos en el presente estudio. En cada una de las etapas se considerando la ética científica que involucra la veracidad intelectual a lo referente a las fuentes, no plagiar e investigación honesta.

III. RESULTADOS

3.1. Presentación de los resultados

Tabla 1. Resultados del screening fitoquímico (Marcha fitoquímica) del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo).

MARCHA FITOQUIMICA				
TIPO DE METABOLITO	REACCIÓN /REACTIVO	DESCRIPCIÓN	IDENTIFICACIÓN	RESULTADOS
ALCALOIDES	Reactivo Dragendorff	3 ml del extracto + 3 gotas del reactivo	Precipitado de color anaranjado	+++
	Reactivo de Mayer	3 ml del extracto + 3 gotas del reactivo	Precipitado de color blanco lechoso o crema	-
	Reactivo de Wagner	3 ml del extracto + 3 gotas del reactivo	Precipitado de color marron	+++
SAPONINAS	Reacción (prueba) de espuma	3 ml del extracto + 1 ml de H ₂ O destilada, seguido de 2 minutos de agitación	Formación de espuma	+
CUMARINAS	NaOH 10 %	3 ml del extracto + 2 gotas del reactivo	Color amarillo verdoso o azul	++
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	3 ml del extracto + un pedazo de cinta de Mg, agitar y se agrega 1 gota de HCl	Coloración de crimson, magenta o rojo	++
TANINOS	NaCl 5%	2 ml del extracto + 5 gotas de NaCl 5%	Formación de un coloide	-
	Gelatina 1%	2 ml del extracto + 5 gotas de gelatina 1%	Formación de un coloide	
	Reactivo de gelatina + NaCl	2 ml del extracto + 5 gotas del reactivo	Formación de un coloide	
COMPUESTOS FENÓLICOS	FeCl ₃ 1 %	3 ml del extracto + 5 gotas del reactivo	Coloración verde, azul o negra	++
TRITERPENOIDES Y ESTEROIDES	Reacción Lieberman Burchard	1 ml del extracto + 1 ml de cloroformo + 3 gotas del reactivo	Coloración azul, verde, azul verdoso para esteroides. Coloración rosada a purpura para triterpenoides	+

Leyenda: (+++) Muy alta presencia; (++) Alta presencia; (+) Poca presencia; (-) Nula presencia.

En la tabla 1, se muestran los resultados obtenidos después de realizar el screening fitoquímico (marcha fitoquímica) del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* en la cual hay presencia de alcaloides, saponinas, cumarinas, flavonoides, compuestos fenólicos y triterpenoides.

Tabla 2. Actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo) frente a cepas de *Candida albicans*.

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>VALLESIA GLABRA</i> FRENTE A <i>CANDIDA ALBICANS</i>						
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES	NÚMERO DE PLACAS					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
	TAMAÑO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)					
25%	11					
	11					
	11					
50%		24.2				
		24.8				
		23.3				
75%			26.5			
			26.8			
			27.1			
100%				29.9		
				29.2		
				29.1		
CONTROL POSITIVO					31.6	
					31.7	
					30.6	
BLANCO						11
						11
						11

Leyenda: - Control positivo: Fluconazol

- Blanco: Etanol 96°

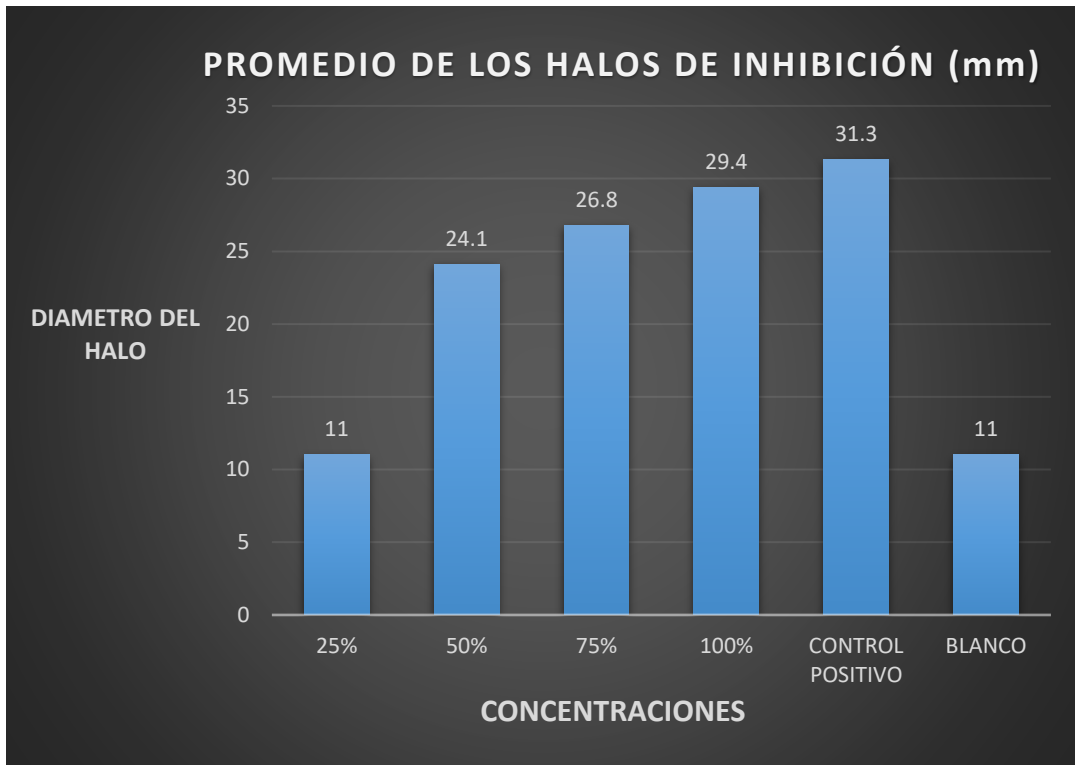


Figura 5. Promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* frente a la cepa de *Candida albicans*

Fuente: El autor

La tabla 2 muestra los resultados de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra*, control positivo (Fluconazol) y blanco (Etanol 96°) frente a cepas de *Candida albicans*, donde el promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% fue de: 11 mm, 24.1 mm, 26.8 mm y 29.4 mm respectivamente; mientras que para el Fluconazol (control positivo) y Etanol 96° (blanco) fue de: 31.3 mm y 11 mm respectivamente. Igualmente, cada pozo tiene una medida de 11 mm, es decir, que si alguna muestra presenta dicha medida se considera un resultado nulo o negativo.

Tabla 3. Actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo) frente a cepas de *Aspergillus niger*.

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>VALLESIA GLABRA</i> FRENTE <i>ASPERGILLUS NIGER</i>						
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES	NÚMERO DE PLACAS					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
	TAMAÑO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)					
25%	11					
	11					
	11					
50%		18.7				
		17.7				
		17.5				
75%			22.8			
			23.5			
			23.9			
100%				24.7		
				25.1		
				25.5		
CONTROL POSITIVO					28.1	
					28.6	
					29.1	
BLANCO						11
						11
						11

Leyenda: - Control positivo: Fluconazol
 - Blanco: Etanol 96°

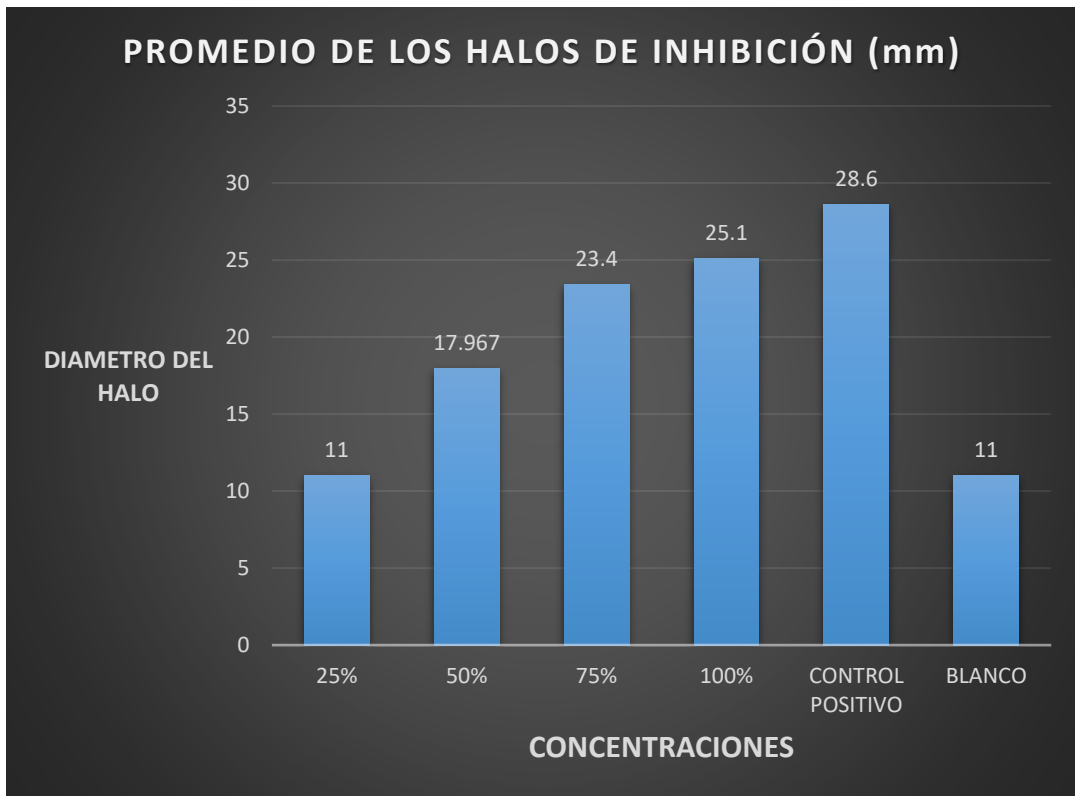


Figura 6. Promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* frente a la cepa de *Aspergillus niger*

Fuente: El autor

La tabla 3 muestra los resultados de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra*, control positivo (Fluconazol) y blanco (Etanol 96°) frente a cepas de *Aspergillus niger*, donde el promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% fue de: 11 mm, 17.967 mm, 23.4 mm y 25.1 mm respectivamente; mientras que para el Fluconazol (control positivo) y Etanol 96° (blanco) fue de: 28.6 mm y 11 mm respectivamente. Igualmente, cada pozo tiene una medida de 11 mm, es decir, que si alguna muestra presenta dicha medida se considera un resultado nulo o negativo.

Tabla 4. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* frente a la cepa de *Candida albicans* según las unidades formadoras de colonias (UFC)

GRUPOS DE TRATAMIENTO	NUMERO DE REPETICIONES	PROMEDIO (UFC/ml)
25%	10	261
50%	10	142
75%	10	80
100%	10	43
Control positivo	10	0
Blanco	10	265

Tabla 5. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* frente a la cepa de *Aspergillus niger* según las unidades formadoras de colonias (UFC)

GRUPOS DE TRATAMIENTO	NUMERO DE REPETICIONES	PROMEDIO (UFC/ml)
25%	10	315
50%	10	310
75%	10	187
100%	10	93
Control positivo	10	21
Blanco	10	314

3.2. Análisis estadístico de los resultados

Tabla 6. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo) frente a cepas de *Candida albicans*.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
CONCENTRACIONES	5	1230.82	246.164	1210.64	0.000
Error	12	2.44	0.203		
Total	17	1233.26			

Donde:

Hipótesis nula = No existe diferencias significativas entre las concentraciones ($p > 0.05$)

Hipótesis alterna = Existe diferencias significativas entre las concentraciones ($p < 0.05$)

Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

La tabla 6 presenta el resultado de la prueba de ANOVA de la actividad antifúngica del extracto etanólico del Perlillo frente a cepas de *Candida albicans*., donde $p < 0.05$ confirmando la hipótesis alterna, por lo tanto, hay diferencias significativas entre las concentraciones, grupo control y blanco.

Tabla 7. Prueba Tukey y un nivel de confianza de 95% de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo) frente a cepas de *Candida albicans*

CONCENTRACIONES	N	Media	Agrupación
Control positivo	3	31.300	A
100.00%	3	29.400	B
75.00%	3	26.800	C
50.00%	3	24.100	D
Blanco	3	11.00	E
25.00%	3	11.00	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

En la tabla 7 nos muestra que las medias de las concentraciones y control positivo son significativamente diferentes, excepto el blanco y la concentración al 25%.

Tabla 8. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo) frente a cepas de *Aspergillus niger*.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
CONCENTRACIONES	5	828.691	165.738	877.44	0.000
Error	12	2.267	0.189		
Total	17	830.958			

Donde:

Hipótesis nula = No existe diferencias significativas entre las concentraciones ($p > 0.05$)

Hipótesis alterna = Existe diferencias significativas entre las concentraciones ($p < 0.05$)

Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

La tabla 8 presenta el resultado de la prueba de ANOVA de la actividad antifúngica del extracto etanólico del Perlillo frente a cepas de *Aspergillus niger*, donde $p < 0.05$ confirmando la hipótesis alterna, por lo tanto, hay diferencias significativas entre las concentraciones, grupo control y blanco.

Tabla 9. Prueba Tukey y un nivel de confianza de 95% de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Perlillo) frente a cepas de *Aspergillus niger*

CONCENTRACIONES	N	Media	Agrupación
CONTROL POSITIVO	3	28.600	A
100.00%	3	25.100	B
75.00%	3	23.400	C
50.00%	3	17.967	D
BLANCO	3	11.00	E
25.00%	3	11.00	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La tabla 9 nos muestra que las medias de las concentraciones y control positivo son significativamente diferentes, excepto el blanco y la concentración al 25%.

Tabla 10. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* frente a la cepa de *Candida albicans* según las unidades formadoras de colonias (UFC)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
GRUPOS DE TRATAMIENTO	5	624689	124938	639.22	0.000
Error	54	10554	195		
Total	59	635243			

Donde:

Hipótesis nula = No existe diferencias significativas entre las concentraciones ($p > 0.05$)

Hipótesis alterna = Existe diferencias significativas entre las concentraciones ($p < 0.05$)

Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

La tabla 10 presenta el resultado de la prueba de ANOVA de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* frente a la cepa de *Candida albicans* según las unidades formadoras de colonias (UFC), donde $p < 0.05$ confirmando la hipótesis alterna, por lo tanto, hay diferencias significativas entre los grupos de tratamiento.

Tabla 11. Prueba Tukey y un nivel de confianza de 95% de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* frente a la cepa de *Candida albicans* según las unidades formadoras de colonias (UFC)

GRUPOS DE TRATAMIENTO	N	Media	Agrupación
BLANCO	10	265.00	A
CONCENTRACIÓN AL 25%	10	261.00	A
CONCENTRACIÓN AL 50%	10	141.50	B
CONCENTRACIÓN AL 75%	10	80.00	C
CONCENTRACIÓN AL 100%	10	43.00	D
CONTROL POSITIVO	10	0.000000	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La tabla 11 nos muestra que las medias de las UFC/ml de las concentraciones al 50%, 75%, 100% y control positivo son significativamente diferentes, excepto el blanco y la concentración al 25%.

Tabla 12. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* frente a la cepa de *Aspergillus niger* según las unidades formadoras de colonias (UFC)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
GRUPOS DE TRATAMIENTO	5	817133	163427	1303.17	0.000
Error	54	6772	125		
Total	59	823905			

Donde:

Hipótesis nula = No existe diferencias significativas entre las concentraciones ($p > 0.05$)

Hipótesis alterna = Existe diferencias significativas entre las concentraciones ($p < 0.05$)

Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

La tabla 12 presenta el resultado de la prueba de ANOVA de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* frente a la cepa de *Aspergillus niger* según las unidades formadoras de colonias (UFC), donde $p < 0.05$ confirmando la hipótesis alterna, por lo tanto, hay diferencias significativas entre los grupos de tratamiento.

Tabla 13. Prueba Tukey y un nivel de confianza de 95% de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* frente a la cepa de *Aspergillus niger* según las unidades formadoras de colonias (UFC)

GRUPOS DE TRATAMIENTO	N	Media	Agrupación
CONCENTRACIÓN AL 25%	10	315.00	A
BLANCO	10	314.00	A
CONCENTRACIÓN AL 50%	10	310.00	A
CONCENTRACIÓN AL 75%	10	187.00	B
CONCENTRACIÓN AL 100%	10	93.00	C
CONTROL POSITIVO	10	21.00	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La tabla 13 nos muestra que las medias de las UFC/ml de las concentraciones al 75%, 100% y control positivo son significativamente diferentes, excepto el blanco, la concentración al 25% y 50%.

IV. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó la determinación de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* “Perlillo”, para lo cual primero se realizó el screening fitoquímico (marcha fitoquímica) se obtuvo como resultado la presencia de alcaloides, saponinas, cumarinas, flavonoides, compuestos fenólicos y triterpenoides como metabolitos secundarios (tabla 1); estos resultados se pueden contrastar con la investigación de Morán Palacio et al. (2014) que obtuvo como hallazgo de las hojas de *Vallesia glabra* los siguientes metabolitos secundarios: alcaloides, polifenoles, terpenos, taninos y esteroides.⁴⁴ En otro estudio realizado por Quintanilla CD y Guerrero JA (2018) tuvieron como resultado de la marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Valesia glabra* metabolitos secundarios como alcaloides, saponinas y cumarinas.¹⁵

Para la determinar la actividad antifúngica se utilizó el método de difusión en agar, para el caso de la cepa de *Candida albicans* se obtuvieron como resultados promedios de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% fue de: 11 mm, 24.1 mm, 26.8 mm y 29.4 mm respectivamente. De acuerdo a los resultados obtenidos y a la escala de Durafford las concentraciones al 25% y blanco poseen actividad antifúngica nula, la concentración al 50% posee sensibilidad limite, la concentración al 75% y 100% poseen actividad muy sensible, mientras el control positivo posee actividad antifúngica sumamente sensible. En el caso de la actividad antifúngica frente *Aspergillus niger* se obtuvieron como resultados promedios de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de: 11 mm, 17.967 mm, 23.4 mm y 25.1 mm respectivamente. Según a los resultados obtenidos y a la escala de Durafford las concentraciones al 25%, 50% y blanco poseen actividad antifúngica nula, la concentración al 75% posee sensibilidad limite, mientras la concentración al 100% y el control positivo poseen una actividad muy sensible. Conforme a los resultados queda determinado que el extracto etanólico de las hojas de Perlillo posee actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger*, pero la actividad antifúngica no fue mayor que la mostrada por el control positivo (Fluconazol). Este resultado se puede comparar con otro estudio como el de Ramos JH (2022) donde evaluó la actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de *Vallesia glabra* en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% enfrentándolas a cepa de *Candida albicans* procedentes de secreciones vaginales, obteniendo como resultado promedio de los halos de inhibición de 44.2 mm para la concentración de 25%, 51.4 mm para la concentración de 50%, 61 mm para la concentración de 75% y 78 mm para la concentración de 100%. Para el caso de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial fue la concentración del 75%. Donde se concluye que el aceite esencial en concentración de 75% y concentración de 100% tienen actividad antifungica.⁴⁵

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se usó el método de macrodilución, se determinó que la CMI del extracto etanólico de las hojas de Perillio sobre la cepa de *Candida albicans* quedo definida como la concentración al 50% con un resultado de 142 UFC/ml estando dentro del intervalo contable (25 – 250 UFC).

La CMI del extracto etanólico de las hojas de Perillio sobre la cepa de *Aspergillus niger* quedo definida como la concentración al 75% con un resultado de 187 UFC/ml estando dentro del intervalo contable (30 – 300 UFC).

En el presente trabajo se dio como resultado que el extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* “Perillio” posee actividad antifúngica sobre las cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus niger*, dicha actividad se puede atribuir a los metabolitos secundarios hallados; en estudios realizados como el de Lock de Ugaz O (1994) en su investigación indica que los flavonoides y fenoles, presentes también en el extracto etanólico de las hojas de Perillio, poseen actividad antibacterianas, antiinflamatorias y antifúngica, del cual su acción produce lesiones en la membrana citoplasmática, ocasionando una disfunción en la composición interna de las células.³⁵ En la investigación de Boulogne I, et al. (2020) se describe que los alcaloides, compuestos fenólicos y terpenoides son compuestos químicos que tienen actividad antifúngica y son los más citados con regularidad a lo que se refiere a metabolitos secundarios con actividad antifúngica.⁴⁶

V. CONCLUSIONES

- Se identificó la presencia de alcaloides, saponinas, cumarinas, flavonoides, compuestos fenólicos y triterpenoides como metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* “Perlillo”.
- El extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* “Perlillo” presenta actividad antifúngica frente a la cepa de *Candida albicans* en las concentraciones de 50%, 75% y 100%, siendo mayor la actividad antifúngica conforme se incrementa la concentración, pero no mayor al control positivo (Fluconazol). Además, se determinó que la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue la concentración al 50%.
- El extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* “Perlillo” presenta actividad antifúngica frente a la cepa de *Aspergillus niger* en las concentraciones de 75% y 100%, siendo mayor la actividad antifúngica conforme se incrementa la concentración, pero no mayor al control positivo (Fluconazol). Además, se determinó que la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue la concentración al 75%.

VI. RECOMENDACIONES

- Aislar a los metabolitos secundarios responsables de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* “Perlillo”.
- Efectuar estudios *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* enfrentándolo a otros grupos de cepas de hongos.
- Efectuar investigaciones *in vivo* de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* en modelos animales por distintas vías de administración, con la finalidad de evaluar la actividad antifúngica, de igual modo establecer la dosis terapéutica y la óptima concentración para que pueda ser usada como medicamento.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. (Lima, 19 de marzo del 2018). Lima: OPS; 2019. Disponible en:
<https://iris.paho.org/handle/10665.2/50479>
2. Ministerio de desarrollo agrario y riego, Gobierno del Perú. Plantas Medicinales [Internet]. Lima, Perú: Ministerio de desarrollo agrario y riego. Disponible en:
<https://www.midagri.gob.pe/portal/59-sector-agrario/plantas-medicinales>
3. Kember MC, Liliana RSE. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía peruana [Internet]. Lima, Perú: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, 2000. Disponible en:
<https://repositorio.iiap.gob.pe/handle/20.500.12921/74>
4. Ubikmedia. Los hongos y su impacto en la salud: descifrando el enigma - Blog CaixaResearch [Internet]. Blog CaixaResearch. 2023. Disponible en:
<https://blog.caixaresearch.org/hongos-impacto-salud/>
5. IETSI - EsSalud. Eficacia y seguridad de isavuconazol oral, como terapia de mantenimiento, en pacientes adultos con aspergilosis invasiva y con falla o intolerancia a voriconazol oral y posaconazol oral. Dictamen Preliminar de Evaluación de Tecnología Sanitaria N.º 005-DETS-IETSI-2020. Lima, Perú. 2020. Disponible en:
https://www.essalud.gob.pe/ietsi/pdfs/directivas/DICT_05_DETS_2020.pdf
6. Hani U, Shivakumar H, Osmani R et al. Candidiasis: a fungal infection current challenges and progress in prevention and treatment. *Infect Disord Drug Targets*. 2015;15(1):42-52. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25809621/>
7. Matsubara V, Mayer M, Samaranayake L. Probiotics as Antifungals in Mucosal Candidiasis. *Clin Infect Dis*. 2016; 62(9):1143-53. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26826375/>
8. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013;4(2):119-28.
9. Francois M, Duncan W, Bernhard H. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence* [Internet]. 15 de febrero de 2013;4(2):119-28. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3654610/>
10. Jaqueti J., Ramiro P. et al. Epidemiología y etiología de la candidiasis vaginal en mujeres españolas e inmigrantes en Fuenlabrada (Madrid). *Rev Esp Quimioter*. 2020;33(3):187-92.

11. Wilson D. *Candida albicans*. Revista Tendencias en Microbiología 27.2 [Internet] (2019): 188-189. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.10.010>
12. Sandoval PA. “Caracterización de la actividad antifúngica y anti-virulencia de Especies Arbóreas Nativas de la Patagonia chilena sobre *Candida albicans*” [Tesis de pregrado]. Santiago, Chile: Universidad de Chile; 2022. Disponible en:
<https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/188192>
13. Fiallos VE. “Actividad antifúngica del té verde (*Camellia sinensis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) frente a *Candida albicans*” [Tesis de pregrado]. Riobamba, Ecuador: Universidad nacional de Chimborazo;2021. Disponible en:
<http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/8507>
14. Carrión AM, “Determinación de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Plumbago scandens* (Plumbaginaceae) por la técnica de Kirby Bauer modificada” [Tesis de pregrado]. Loja, Ecuador: Universidad Nacional de Loja;2019. Disponible en:
<https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/21821>
15. Quintanilla CD, Guerrero JA. “Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Vallesia glabra* (Cun cun) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* estudio in vitro” [Tesis de pregrado]. Lima, Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega;2018. Disponible en:
<http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/3073>
16. Capcha YG, Meza US en la tesis titulada Actividad cicatrizante del gel formulado con extracto etanólico de corteza *Vallesia glabra* (cav.) link “agracejo peruano” en ratones albinos [Tesis de pregrado]. Huancayo, Perú: Universidad Roosevelt; 2024. Disponible en:
<https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/handle/20.500.14140/2183>
17. Huamán LM, Muñoz RG en la tesis Actividad antifúngica in vitro de los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *curcuma longa* l. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275[Tesis de pregrado]. Lima, Perú: Universidad María Auxiliadora;2023. Disponible en:
<https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/2036>
18. Fernandez EL, Rojas JL en la tesis Actividad antifúngica de la crema a base del extracto metanólico de las flores de *Nerium oleander* l. “laurel rosa” sobre *Candida albicans* ATCC 10231 [Tesis de pregrado]. Lima, Perú: Universidad María Auxiliadora;2022. Disponible en:
<https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1127>

19. Mañuico M, Puma SM en el trabajo de tesis “Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* “SAETILLA” sobre *Candida albicans*” [Tesis de pregrado]. Lima, Perú: Universidad María Auxiliadora;2023. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1941>
20. Castañeda N. *Vallesia glabra* (Cav.) Link. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de ciencias forestales. (Lima 2018). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/325978661_Link_Vallesia_glabra_Cav_Link_etnobotanica
21. Thomas G. Mitchell. Micología médica. En: Geo. F. Brooks, Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse, Timothy A. Mietzner (eds). Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología médica [Internet]. 25ª ed. México D.F: McGraw-Hill, Interamericana;2011. p 625 -664. Disponible en: https://www.academia.edu/51148273/Jawetz_Melnick_y_Adelberg_Microbiolog%C3%ADa_m%C3%A9dica_25a_edici%C3%B3n
22. Raffino. Reino fungi [internet]. Buenos Aires, Argentina: Equipo editorial, Etecé; 2021. Disponible en: <https://concepto.de/reino-fungi/>
23. Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case. Introducción a la microbiología. 9na Edición. 2007. Editorial medica Panamericana S.A. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/565196884/Introduccion-a-la-Microbiologia-Tortora-9-Edicion>
24. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología médica. 7 ed. España: Elsevier; 2014. p. 605 – 711. Disponible en: https://www.academia.edu/42031006/Microbiolog%C3%ADa_m%C3%A9dica_7_a_edici%C3%B3n
25. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. Fichas de agentes biológicos- Hongos- *Candida albicans* [Internet]. Madrid, España: Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo; 2023. Disponible en: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/Candida-albicans>
26. Organización mundial de la salud. Lista de patógenos fúngicos prioritarios de la OMS para guiar la investigación, el desarrollo y las acciones de salud pública. Ginebra, Suiza: OMS; 2022. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>
27. Marie-Alix d'Halewyn, Pierre Chevalie. *Aspergillus niger* [Internet]. Québec: Institut national de santé publique du Québec; 2023. Disponible en: <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/Aspergillus-niger>

28. Don Sheppard, Harry W. Lampiris. Fármacos antimicóticos. En: Bertram G. Katzung, Susan B. Masters, Anthony J. Trevor (eds). Farmacología básica y clínica [Internet]. 12 ed. Mexico D.F: McGraw-Hill, Interamericana; 2013. p 849-859. Disponible en: <https://drive.google.com/file/d/1KUf0AF70rMovQj5-ohQ48hjJSieo8ueQ/view>
29. Madigan Michael T., Martinko John M., Parker Jack. Biología de los microorganismos. [Internet]. 10 ed. Estados Unidos: Pearson PrenticeHall. 2004. Disponible en: <https://es.slideshare.net/slideshow/biologa-de-los-microorganismos-brock-10ed/2852286>
30. Zurita Macalupú S, Urcia Ausejo F, Navarro Mariñas A. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico. Lima, Perú: Ministerio de salud, Instituto nacional de salud. 2017
31. Carrión A. y García C. Preparación De Extractos Vegetales: Determinación De Eficiencia De Metódica [Internet]. Universidad De Cuenca; 2010. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>
32. Pérez-Alonso N, Jiménez E. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro*. Biotecnología Vegetal. 2011: 11 (4), 195 – 211.
33. Gregori Valdés BS. Estructura y actividad de los antifúngicos. Revista cubana de farmacia Rev. [Internet]. 2005: 39(2): 1-1. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000200012&lng=es.
34. Biology Online. Colony-forming unit Definition and Examples - Biology Online Dictionary [Internet]. Biology Articles, Tutorials & Dictionary Online. 2024. Disponible en: <https://www.biologyonline.com/dictionary/colony-forming-unit>
35. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 2 ed. PUCP. Fondo Editorial., Lima. 1994.
36. 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. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332007000300011
37. Cano C, Bonilla P, Mirtha Roque M, Ruiz J. Actividad antimicótica *in vitro* y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Mintostachys mollis* (muña). Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública Rev. 2008: 25(3), 298-301. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172646342008000300008

38. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2003; 88(2-3):199-204. Disponible en:
<https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/12448>
39. Duraffourd C. lapraz J. Cuaderno de Fitoterapia Clínica. Editorial Masson; Francia 1986.1° Ed.
40. Arumugam P, Mohamad I, Salim R, et al. Antifungal effect of Malaysian Neem Leaf extract on selected fungal species of pathogenic otomycosis in vitro culture medium. *Malays J Med Health Sci.* 2015;11(2):69-84. Disponible en:
https://medic.upm.edu.my/upload/dokumen/FKUSK1_Final_Article_8.pdf
41. Pérez AS. “Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* sobre especies causantes de Otomicosis” [Tesis de pregrado]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2018. Disponible en:
<https://dspace.unitru.edu.pe/items/75037387-29d3-4ff4-bdf1-2ca184579e1d>
42. Benites CH. “Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (“TARA”) sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 90028” [Tesis de pregrado]. Trujillo, Perú: Universidad Privada Antenor Orrego; 2015. Disponible en:
<https://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/1313>
43. Pavone D, Pavone D. Recuento de Unidades Formadoras de Colonias en placas de agar [Internet]. Eduvita - Ciencia, Tecnología y Negocios. Cursos, Certificaciones y Diplomados. 2024. Disponible en:
<https://www.eduvitaweb.com/recuento-ufc-agar/>
44. Moran-Palacio EF, Tortoledo-Ortiz, et al. Determination of amino acids in medicinal plants from Southern Sonora, Mexico. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 2014;13(4):601-606. Disponible en:
10.4314/tjpr.v13i4.17, 10.4314/tjpr.v13i4.17
45. Ramos JH. “Efecto antifúngico del aceite esencial de *Vallesia glabra* “cun cun” *in vitro* frente a cepas de *Candida albicans* procedentes de muestras clínicas” [Tesis de pregrado]. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2022. Disponible en:
<https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/14010>
46. Boulogne I, Petit P, Ozier-Lafontaine H, Desfontaines L, Loranger-Merciris G. Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environ Chem Lett.* 2012; 10(4): 325-347

VIII. ANEXOS

- **Anexo 1: Matriz de consistencia**

Tema: Determinación de la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> "Perlillo"						
Problema general	Objetivo general	Hipótesis general	Operacionalización de variables			Metodología
			Variable Independiente	Indicadores	Índice	
¿El extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) presenta actividad antifúngica?	Determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo)	Existe actividad antifúngica en el extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo).	Extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo)	Metabolitos secundarios	Reacción de coloración y precipitación. Concentración del extracto	Tipo de investigación: transversal. Diseño de la investigación: experimental.
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específicas	Variable dependiente	Indicadores	Índice	Nivel de la investigación: básica.
<p>¿Qué tipos de metabolitos secundarios presentara el extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo)?</p> <p>¿Las concentraciones de extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) tendrán actividad antifúngica frente a la <i>Candida albicans</i>?</p> <p>¿Las concentraciones de extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) tendrán actividad antifúngica frente a la <i>Aspergillus niger</i>?</p>	<p>Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo)</p> <p>Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) con actividad antifúngica frente a la <i>Candida albicans</i>.</p> <p>Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) con actividad antifúngica frente a <i>Aspergillus niger</i>.</p>	<p>HE1: Existirá diferentes metabolitos secundarios en el extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo).</p> <p>HE2: Las concentraciones del extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) tendrá actividad antifúngica frente a la <i>Candida albicans</i></p> <p>HE3: Las concentraciones del extracto etanólico de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo) tendrá actividad antifúngica frente a la <i>Aspergillus niger</i></p>	Actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> (Perlillo)	<p>Método de difusión en agar</p> <p>Concentración mínima inhibitoria</p>	<p>Escala de Durafford: diámetro del halo en mm</p> <p>UFC/ml</p>	<p>Población: hojas de <i>Vallesia glabra</i> "Perlillo".</p> <p>Muestra: extracto etanólico de las hojas de <i>Vallesia glabra</i> "Perlillo".</p> <p>Técnicas de recopilación de información: -Maceración. -Difusión en agar. -Macrodilución.</p> <p>Técnicas de procesamiento de información: Método ANOVA y Tukey mediante MINITAD STATISTICAL SOFTWARE 22.</p>

- Anexo 2: Certificación de la planta

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Blgo. Que suscribe determina que la muestra biológica presentada por don. **PADILLA PISCONTE, César Paul** con DNI N° 47756039, para su determinación pertenece al nombre científico de *Vallesia glabra* "perlillo", según sistema de Cronquist 1988

DIVISIÓN MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: SCROPHULARIALES

FAMILIA: BIGNONIACEAE

GÉNERO: VALLESIA

ESPECIE: *Vallesia glabra*

N.V. perlillo

Se emite la presente certificación a solicitud del interesado.

Ica, 08, de agosto del 2024.



UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Dr. Miranda Huamán David Máximo

- Anexo 3: Certificación de las cepas de hongos



CENTRO DE INVESTIGACIÓN, CAPACITACIÓN Y ASESORÍA

F.F. 15-01-2016. Urb. Los Viñedos d-21 Ica-Perú.
CICA

EL QUE SUSCRIBE, DIRECTOR DEL "CENTRO DE INVESTIGACIÓN, CAPACITACIÓN Y ASESORÍA" (CICA),

CERTIFICA

Que, luego de su reactivación se ha verificado la identidad de las cepas clínicas de los hongos en el laboratorio de microbiología del Centro de Investigación CICA, siendo las especies:

- *Aspergillus niger*

- *Candida albicans*

Por lo que, se otorga el presente documento.

Ica, 05 de diciembre de 2024




Bigo. Luis Antonio Cartagena Sigvas
CBP 2434
DIRECTOR del CICA



- Anexo 4: Registro fotográfico

Recolección, selección, secado, molienda y obtención del extracto etanólico de las hojas de Perillo



Figura 7. Selección, secado y molienda de las hojas de Perillo



Figura 8. Proceso de maceración y obtención del extracto etanólico de las hojas de Perillo

Screening fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de Perillo



Figura 9. Proceso de identificación de los metabolitos secundarios

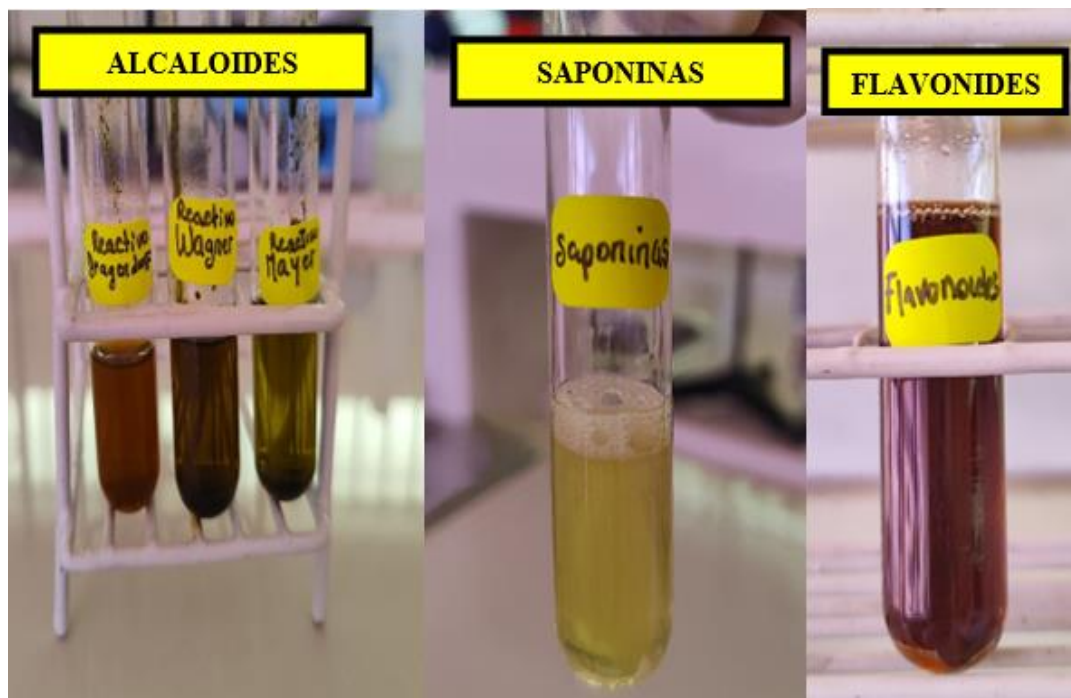


Figura 10. Identificación de alcaloides, saponinas y flavonoides



Figura 11. Identificación de cumarinas, triterpenoides y esteroides

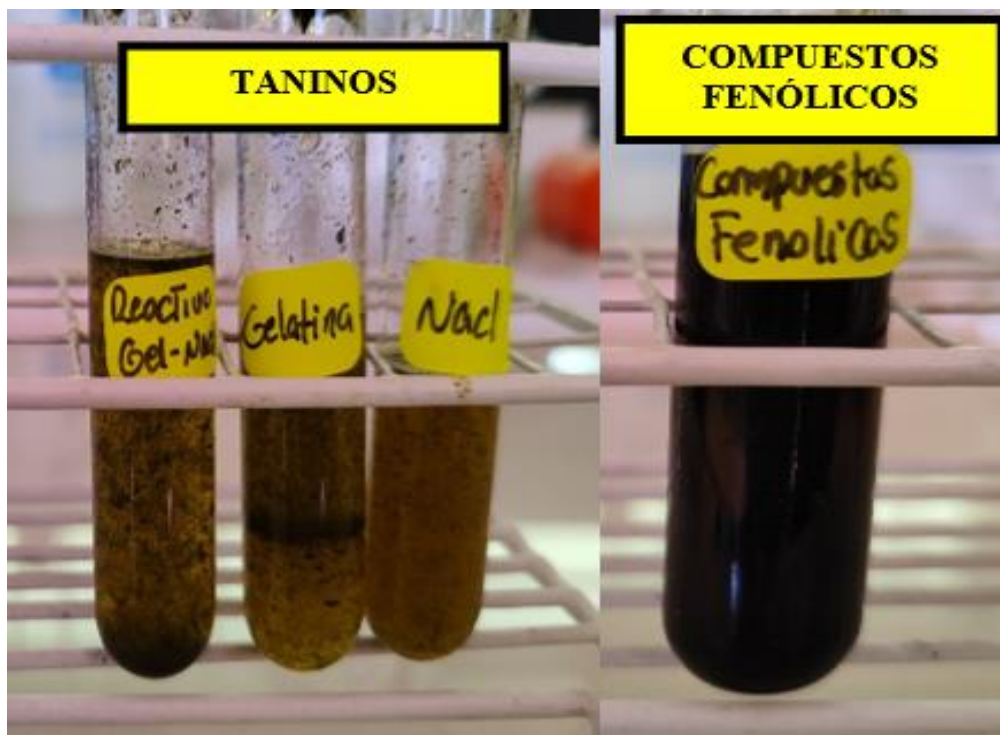


Figura 12. Identificación de taninos y compuestos fenólicos

Determinación de la actividad antifúngica y la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de Perillio

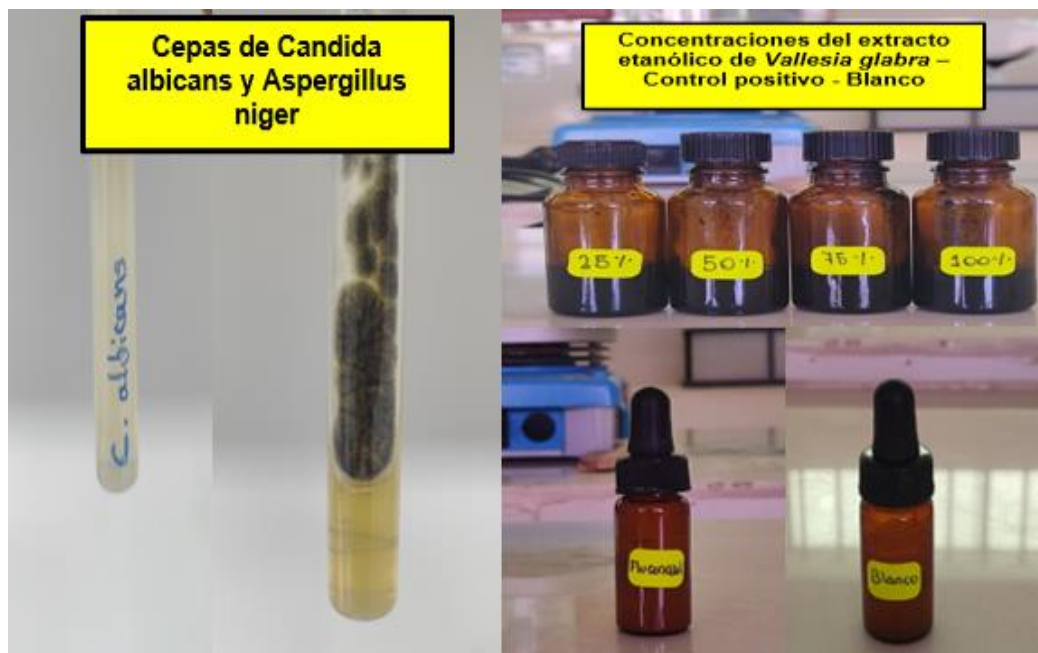


Figura 13. Cepas de los hongos, concentraciones del extracto etanólico de las hojas de Perillio, control positivo y blanco

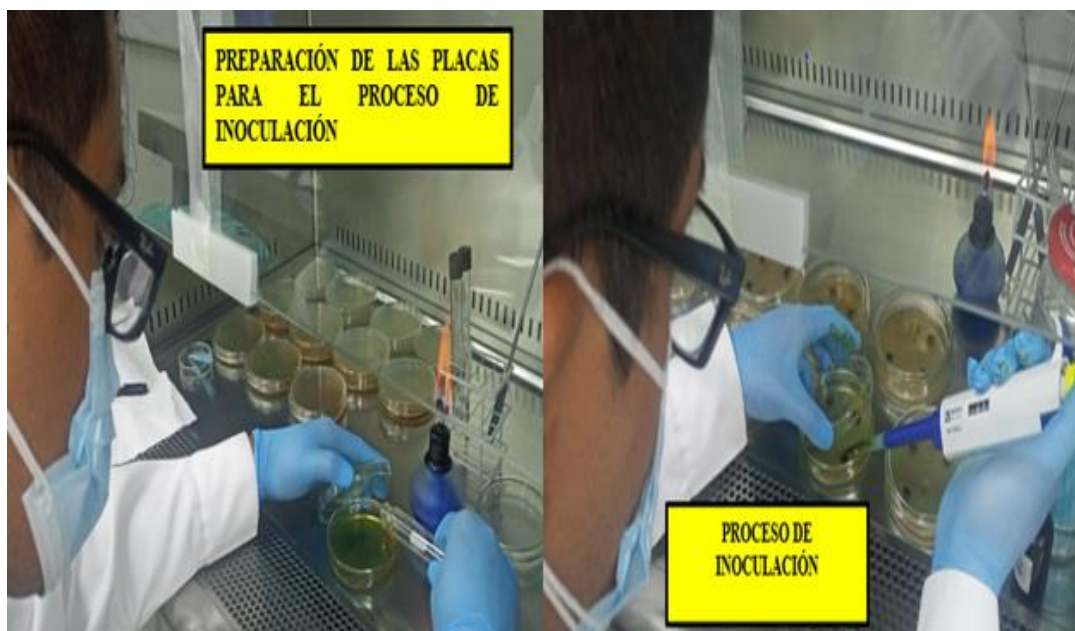


Figura 14. Preparación y proceso de inoculación de las placas

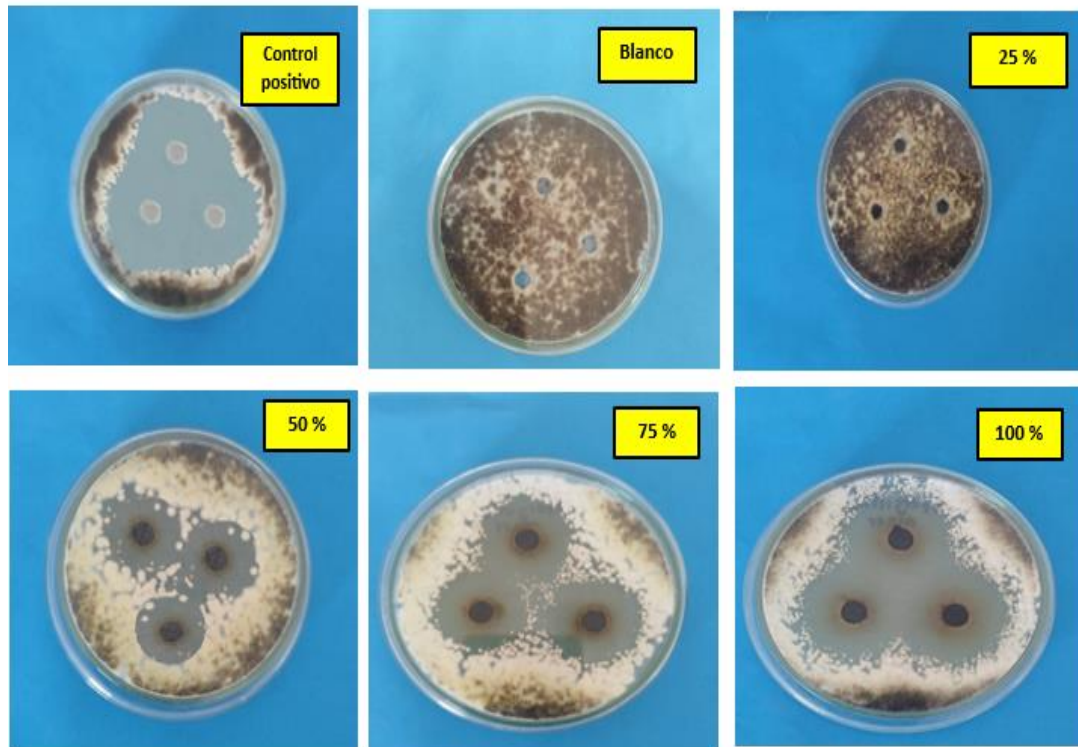


Figura 15. Resultados de la actividad antifúngica de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de Perillo, control positivo y blanco frente *Aspergillus niger*

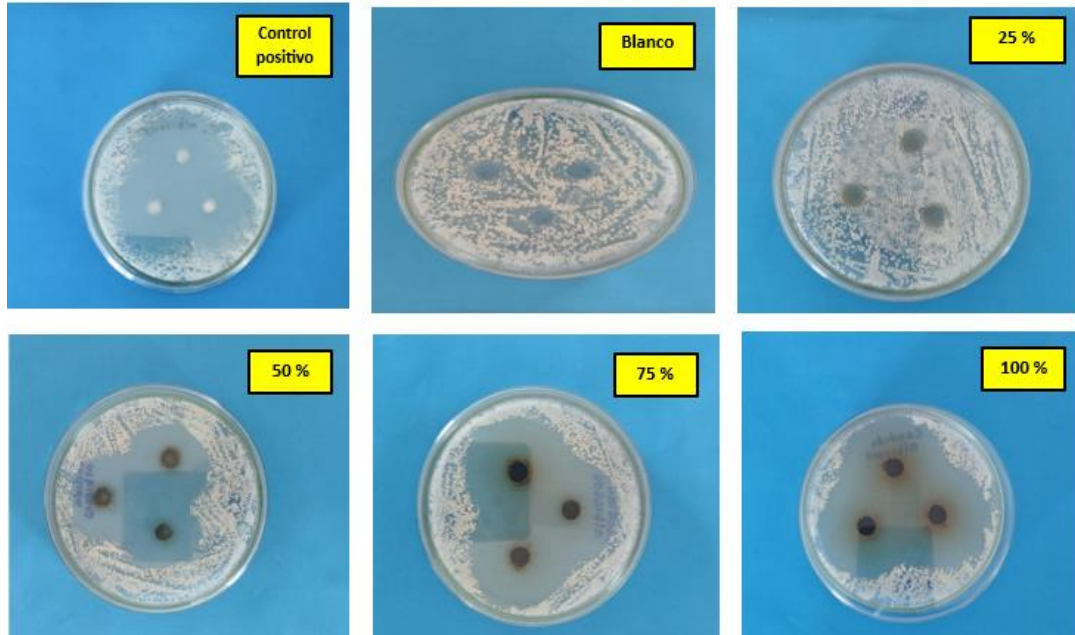


Figura 16. Resultados de la actividad antifúngica de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de Perillo, control positivo y blanco frente a *Candida albicans*



Figura 17. Preparación de los tubos de macrodilución con los grupos de tratamiento y el proceso de incubación



Figura 18. Proceso de barrido (estriado) e incubación de las placas durante el proceso de la determinación de la concentración mínima inhibitoria

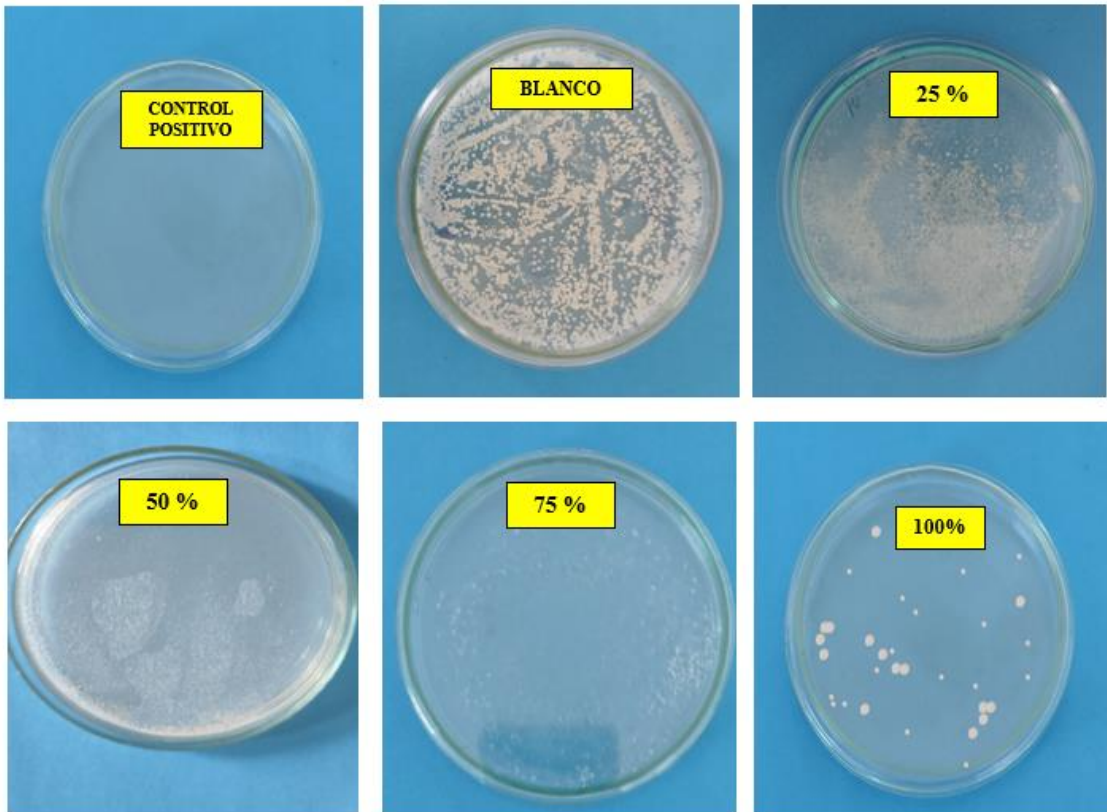


Figura 19. Resultados de la CMI de los grupos de tratamiento sobre la cepa de *Candida albicans*

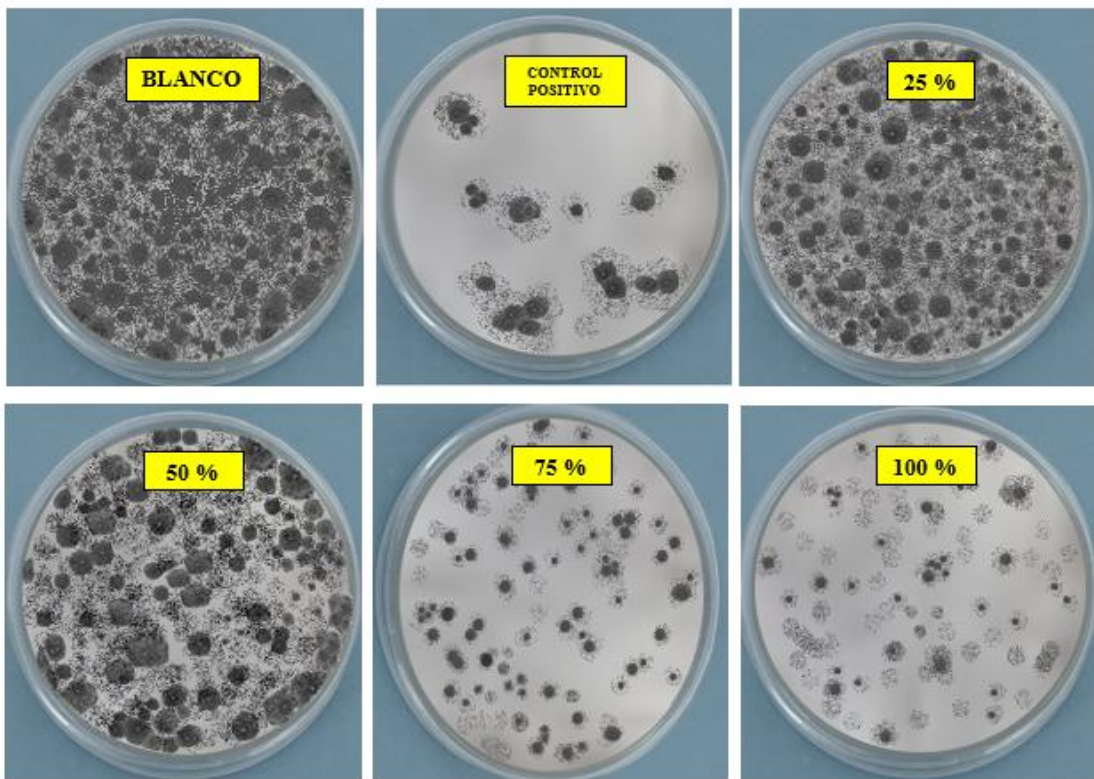


Figura 20. Resultados de la CMI de los grupos de tratamiento sobre la cepa de *Aspergillus niger*