



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**ACTIVIDAD ANTIMICÓTICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* L. FRENTE A *Candida
albicans***

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: JENNIFER ALEXANDRA SUPE CURAY

DIRECTORA: Dra. ADRIANA MONSERRATH MONGE MORENO MSc.

Riobamba – Ecuador

2023

© 2023, Jennifer Alexandra Supe Curay

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Jennifer Alexandra Supe Curay, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los resultados de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 19 de junio 2023



Jennifer Alexandra Supe Curay

180412140-6

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **ACTIVIDAD ANTIMICÓTICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* L. FRENTE A *Candida albicans***, realizado por la señorita: **JENNIFER ALEXANDRA SUPE CURAY**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Bqf. Gisela Alexandra Pilco Bonilla MSc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2023-06-19
Dra. Adriana Monserrath Monge Moreno MSc. DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACION CURRICULAR		2023-06-19
Bqf. Diego Renato Vinueza Tapia MSc. ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACION CURRICULAR		2023-06-19

DEDICATORIA

Este trabajo de titulación le dedico a Dios, por darme vida, fuerza y sabiduría para cumplir cada una de mis expectativas, a mis padres por brindarme su apoyo incondicional en todo momento y por su paciencia todo lo que soy ahora es gracias a ellos. Y a toda mi familia y amigas/os que de una y otra forma me apoyaron es este trayecto universitario, siempre los llevaré en mi corazón.

Jennifer

AGRADECIMIENTO

A Dios, por haberme acompañado y ser mi fortaleza en los momentos más difíciles de mi carrera, gracias por permitirme tener a mis padres a mi lado para que miren el fruto de su esfuerzo. A mis padres, Alfredo y Verónica, que siempre confiaron en mí, supieron darme un abrazo cuando lo necesitaba, su fuerza, sus consejos y su amor incondicional. Este es el mejor regalo que puedo darles. Los amo con todo el corazón, Papá y Mamá. A mi hermano Isaac Samuel por su cariño, preocupación y por darme ánimo y demostrarme lo feliz que se siente de verme lograr cumplir mi sueño. Quiero agradecer también a aquellos y aquellas docentes que, con vocación y paciencia me compartieron sus conocimientos académicos, en especial a la Dra. Adriana Monge, tutora y guía de este proyecto, y al BQF. Diego Vinueza, asesor, quienes me ayudaron en este trabajo de titulación, estaré eternamente agradecida por brindarme su tiempo y ayuda desinteresada.

Jennifer

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
ÍNDICE DE ABREVIATURA.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA.....	2
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Justificación.....	3
1.3. Objetivos.....	3
1.3.1. <i>Objetivo general</i>	3
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i>	3

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Referencias teóricas.....	4
2.1.1. <i>Paico</i>	4
2.1.1.1. <i>Descripción botánica</i>	4
2.1.1.2. <i>Clasificación taxonómica</i>	4
2.1.1.3. <i>Composición y principios activos</i>	5
2.1.1.4. <i>Usos medicinales</i>	5
2.1.2. <i>Extracto vegetal y tipos de procesos de extracción</i>	5
2.1.2.1. <i>Maceración</i>	6
2.1.2.2. <i>Hidrodestilación</i>	6
2.1.2. <i>Percolación</i>	6
2.1.3. <i>Metodología para la preparación del extracto etanólico</i>	7
2.1.3.1. <i>Etanol</i>	7
2.1.3.2. <i>Extracto etanólico</i>	7

2.1.4. Caracterización fitoquímica	7
2.1.4.1. <i>Flavonoides</i>	8
2.1.4.2. <i>Alcaloides</i>	8
2.1.4.3. <i>Saponinas</i>	9
2.1.4.4. <i>Triterpenos y/o esteroides</i>	9
2.1.5. Ceba antifúngica	10
2.1.5.1. <i>Candida albicans</i>	10
2.1.5.2. <i>Clasificación taxonómica</i>	11
2.1.5.3. <i>Características microbiológicas</i>	11
2.1.5.4. <i>Factores de virulencia</i>	11
2.1.6. Actividad antimicótica	13
2.1.7. Antifúngicos	13
2.1.7.1. <i>Miconazol</i>	13
2.1.7.2. <i>Mecanismo de acción</i>	14
2.1.7.3. <i>Fluconazol</i>	14
2.1.7.4. <i>Mecanismo de acción</i>	15
2.1.8. Método de sensibilidad	15
2.1.8.1. <i>Método de difusión en disco</i>	15

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO	17
3.1. Descripción del proceso	17
3.2. Materiales	17
3.3. Normas y enfoque de investigación	18
3.4. Alcance y diseño de la investigación	19
3.5. Tipo de investigación	19
3.6. Métodos	19
3.6.1. Método de extracción del extracto etanólico de paico	19
3.6.1.1. <i>Pre-tratamiento</i>	19
3.6.1.2. <i>Extracción alcohólica total</i>	20
3.6.1.3. <i>Filtrado</i>	20
3.6.2. <i>Porcentaje de rendimiento</i>	20
3.6.3. <i>Determinación de cenizas totales</i>	21
3.6.4. <i>Tamizaje fitoquímico del extracto vegetal</i>	21
3.6.4.1. <i>Ensayo para reconocimiento de flavonoides</i>	21

3.6.4.2.	<i>Ensayo para reconocimiento de alcaloides</i>	21
3.6.4.3.	<i>Ensayo para reconocimiento de saponinas</i>	21
3.6.4.4.	<i>Ensayo de reconocimiento de triterpenos y esteroides</i>	21
3.6.5.	Análisis microbiológico	23
3.6.5.1.	<i>Etapa 1: reactivación y cultivo de cepa C. albicans</i>	22
3.6.5.2.	<i>Etapa 2: preparación de medios de cultivo</i>	22
3.6.5.3.	<i>Etapa 3: preparación de concentraciones de extracto etanólico</i>	24
3.6.5.4.	<i>Etapa 4: preparación de la escala McFarland</i>	24
3.6.5.5.	<i>Etapa 5: evaluación del efecto antimicótico del extracto etanólico de paico</i>	25
3.6.5.6.	<i>Etapa 6: medición de halos de inhibición</i>	26
3.7.	Técnicas e instrumentos de la investigación	28
3.8.	Análisis estadístico e interpretación de los datos	28
3.9.	Análisis antimicótico del extracto etanólico de las hojas de paico	29

CAPÍTULO VI

4	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	30
4.1.	Porcentaje de rendimiento	29
4.2.	Rendimiento del proceso para la obtención del extracto etanólico de paico	29
4.3.	Cenizas totales	30
4.3.1.	<i>Cenizas totales presentes en el extracto etanólico</i>	30
4.4.	Identificación de metabolitos secundarios: tamizaje fitoquímico	32
4.5.	Evaluación de actividad antimicótica de extracto etanólico por difusión en disco	33
4.5.1.	<i>Datos obtenidos</i>	33
4.5.2.	<i>Datos descriptivos</i>	33
4.5.3.	<i>Datos estadísticos</i>	35
4.6.	Comparación de efecto antimicótico de las distintas concentraciones del extracto	38
4.6.1.	<i>Datos obtenidos</i>	37
4.6.2.	<i>Datos descriptivos</i>	37

CONCLUSIONES	41
--------------	----

RECOMENDACIONES	42
-----------------	----

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Taxonomía de la especie <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	4
Tabla 2-2:	Tamizaje fitoquímico.....	7
Tabla 3-2:	Clasificación taxonómica de <i>C. albicans</i>	11
Tabla 1-3:	Listado de materiales, equipos y reactivos utilizados.....	17
Tabla 2-3:	Determinación de los metabolitos secundarios.....	21
Tabla 3-3:	Concentraciones del extracto etanólico de hojas de paico en ppm.....	24
Tabla 4-3:	Escala de McFarland	26
Tabla 5-3:	Valores de referencia del diámetro de halos de inhibición con los semidiscos	27
Tabla 6-3:	Muestras utilizadas para la inhibición antifúngico.	28
Tabla 1-4:	Características organolépticas de la hoja de Paico.	30
Tabla 2-4:	Porcentaje de rendimiento de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.....	30
Tabla 3-4:	Porcentaje de cenizas totales del extracto etanólico de hoja de paico.....	31
Tabla 4-4:	Tamizaje fitoquímico extracto etanólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.....	32
Tabla 5-4:	Datos de las diferentes concentraciones del extracto de hojas de paico.....	34
Tabla 6-4:	Datos descriptivos del efecto antimicótico del extracto etanólico de paico.....	34
Tabla 7-4:	Efecto antimicótico del extracto etanólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.....	35
Tabla 8-4:	Varianza del efecto antimicótico del extracto etanólico frente a <i>C. albicans</i>	36
Tabla 9-4:	Datos obtenidos de las concentraciones de estudio, fluconazol y miconazol.....	38
Tabla 10-4:	Datos descriptivos del efecto antimicótico del extracto etanólico de las hojas.....	38
Tabla 11-4:	Comparación de las concentraciones del extracto etanólico con el fluconazol.....	39
Tabla 12-4:	Comparación de las concentraciones del extracto etanólico con el miconazol.	40

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1-2:	Paico (<i>Chenopodium ambrosioides L.</i>).....	4
Ilustración 2-2:	Cepa de <i>Candida albicans</i>	10
Ilustración 3-2:	Estructura química del Miconazol.	14
Ilustración 4-2:	Estructura química del Fluconazol.....	15
Ilustración 1-3:	Análisis antimicótico del extracto etanólico de hojas de paico.....	28

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS HOJAS DE PAICO
- ANEXO B:** PREPARACIÓN DEL MATERIAL PRIMA PARA LA MACERACIÓN
- ANEXO C:** OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE PAICO
- ANEXO D:** RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA
- ANEXO E:** TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PAICO
- ANEXO F:** PREPARACIÓN DEL PATRÓN MCFARLAND
- ANEXO G:** ACTIVACIÓN DE LA CEPA DE *C. albicans*
- ANEXO H:** PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS Y LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE PAICO

ÍNDICE DE ABREVIATURA

ATCC	American Type Culture Collection
BaCl₂	Cloruro de bario
°C	Grados centígrados
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
Desv.	Desviación
DMSO	Sulfóxido de dimetilo
g	Gramo
µg	Microgramo
H₂SO₄	Ácido sulfúrico
I	Intermedio
ml	Militros
mm	Milímetro
NCCLS	Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos
R	Resistente
S	Sensible
UFC	Unidades formadoras de colonias

RESUMEN

La presente investigación tuvo como finalidad determinar actividad antimicótica in vitro del extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. frente a *Cándida albicans*, es de tipo experimental con un enfoque cualitativo y cuantitativo. Una vez recolectadas las hojas de paico en buen estado se procedió al secado, molienda y se realizó la técnica de maceración con etanol al 96%, el macerado se mantuvo en un lugar seco y fresco, alejado de la luz, durante un periodo de 7 días. Se estableció los parámetros de la droga vegetal “paico” como el porcentaje de rendimiento 14,28% y la determinación de cenizas totales 2,2 %. Se realizó el tamizaje fitoquímico, de acuerdo con las reacciones de coloración y precipitación obtenidas, se observó que el extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. existe la presencia de flavonoides, saponinas, triterpenos y/o esteroides. Mediante el método Kirby Bauer se llevó a cabo la evaluación de la actividad antimicótica in vitro del extracto etanólico de hojas de paico a concentraciones de 25% alcanzó a 11,34 mm (sensible); a concentración de 75% alcanzó 16.52 mm (intermedio); y al 100 % fue de 21,94 mm (resistente), sobre cepas de *Cándida albicans*, en el cual se evidencia que la mayor actividad antimicótica es la concentración de 100% que es capaz de inhibir el crecimiento antifúngico. Finalmente, se comparó las cepas antimicóticas en estudio de las diferentes concentraciones con los discos de sensibilidad fluconazol y miconazol, mediante esta prueba se logró establecer el poder antifúngico que presentan el extracto etanólico de paico. Se concluyó que, la planta tiene gran potencial antifúngico, que hasta la actualidad no ha sido estudiada. Se recomienda realizar estudios sobre la especie vegetal para descubrir sus posibles compuestos antifúngicos que pueden ser capaces de combatir la *Candida albicans*.

Palabras claves: <BIOQUÍMICA Y FARMACIA>, <MACERACIÓN>, <ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA>, <TAMIZAJE>, <EXTRACTO ETANÓLICO>, <PAICO (*Chenopodium ambrosioides* L.)>, <DISCOS DE SENSIBILIDAD>, <KIRBY BAUER>.

1350-DBRA-UPT-2023



ABSTRACT

The present research aimed to determine in vitro antifungal activity of ethanolic extract of the leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. against *Candida albicans* is experimental with a qualitative and quantitative approach. Once the price leaves were in good condition collected, they were dried and milled, and the maceration technique with 96% ethanol was carried out; the maceration was kept in a dry and cool place, away from light, for seven days. The parameters of the vegetable drug "paico" were established as the percentage of yield of 14.28% and the determination of total ash of 2.2%. The phytochemical screening carries out according to the reactions of coloration and precipitation obtained; it observes that in the ethanolic extract of leaves of *Chenopodium ambrosioides* L., there is the presence of flavonoids, saponins, triterpenes, and steroids. Using the Kirby Bauer method, the evaluation of the in vitro antifungal activity of ethanolic extract of paico leaves was carried out at concentrations of 25% reached 11.34 mm (sensitive); at a concentration of 75% reached 16.52 mm (intermediate); and 100% was 21.94 mm (resistant), on strains of *Candida albicans*, in which it is evident that the highest antifungal activity is the concentration of 100% that is capable of inhibiting antifungal growth. Finally, the antifungal strains under the study of the different concentrations were compared with the sensitivity discs fluconazole and miconazole; through this test, it was possible to establish the antifungal power of the ethanolic extract of paico. It concludes that the plant has excellent antifungal potential, which has yet to be studied. It recommends carrying out studies on the plant species to discover its possible antifungal compounds that may be able to combat *Candida albicans*.

Keywords: <BIOCHEMISTRY AND PHARMACY>, <MACERATION>, <ANTIFUNGAL ACTIVITY>, <SCREENING>, <ETHANOLIC EXTRACT>, <PAICO (*Chenopodium ambrosioides* L.) >, <SENSITIVITY DISCS>, <KIRBY BAUER>.

1350-DBRA-UPT-2023



Lic. Edison Renato Ruiz López

CI: 0603957044

INTRODUCCIÓN

La resistencia micótica se ha convertido en los últimos años en un problema mundial y se ha observado un incremento significativo en el número de pacientes con micosis que no responden al tratamiento farmacológico, debido al uso inadecuado de los medicamentos, el principal factor la resistencia de levaduras como es la *Cándida spp.* (Fon et al., 2017, p. 28).

Hasta la fecha, se ha informado que existen aproximadamente 50.000 especies de plantas que tienen algún uso medicinal. Aunque su uso nunca ha dejado de ser eficaz, por ende los avances de la ciencia y la tecnología han ayudado a que los principios activos contenidos de las plantas sean sintetizados químicamente, con el objetivo de descubrir los fines curativos (Maldonado et al., 2020, p. 1).

Es importante destacar que el uso de plantas medicinales debe ser realizado con precaución y bajo la supervisión de un profesional de la salud, ya que algunos compuestos pueden tener efectos secundarios o tóxicos y pueden interactuar con otros medicamentos. Sin embargo, la investigación de plantas medicinales continúa siendo una importante fuente de descubrimientos terapéuticos y puede ser útil en la prevención y tratamiento de enfermedades (Maldonado et al., 2020, p. 1).

La especie vegetal *Chenopodium ambrosioides* L. “paico”, considerada como una planta cosmopolita muy extendida en nuestro país, especialmente en la Sierra Ecuatoriana, es utilizada por varias generaciones, cuyos metabolitos secundarios han sido probados por tener actividad nematocida, antifúngica, hepatoprotector, alelopática, etc. La composición química del paico varía según la región donde es recolectada, la madurez, el clima y el método de extracción de la planta, siendo los principales componentes: el ascaridol, monoterpenos, alcaloides, ácido butírico, salicilato de metilo, saponinas, sesquiterpenos, triterpenos, lípidos, flavonoides, aminoácidos, ácidos orgánicos, alcanfor, pectina, taninos, terpenos, carveno, anethole y santonina (Gutierrez, 2018, p. 30).

En esta investigación se desea evaluar la actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de paico obtenido por maceración, esperando con ello dar un aporte significativo a futuras investigaciones para poder lidiar con los problemas actuales de salud. Además, la oportunidad de contribuir la validación científica y su disponibilidad en el mercado como un fármaco de gran ayuda a la población en el tratamiento de infecciones fúngicas de manera efectiva.

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

Las micosis es una infección que se da a nivel mundial, en las últimas dos décadas las tasas de mortalidad y morbilidad de esta patología se ha incrementado, es causada por hongos que afectan a cualquier tejido y órgano, son capaces de producir un cuadro clínico leve, moderado, grave o incluso mortal. El género *Candida* comprende aproximadamente 200 especies, el más importante es la *C. albicans* (López et al., 2016).

La *C. albicans* es considerado un agente oportunista que existe como parte del microbiota en el área mucocutánea, gastrointestinal y genitourinaria, coloniza las membranas mucosas en el 30 a 60 % en los seres humanos. Y puede afectar a cualquier edad, sexo, condición socioeconómica, entre otras y comparten con las infecciones parasitarias, bacteriológicas y virales de la misma importancia médica (Vallejo, 2018).

Las enfermedades infecciosas incorporan un problema crítico para la salud, por la aparición de la resistencia de microorganismos a algunos antibióticos sintéticos, junto con la toxicidad durante el tratamiento prolongado, por lo que se ha buscado nuevas alternativas relacionados con la medicina tradicional a partir de plantas medicinales, en especial para la *C. albicans* al ser un patógeno implicado en las infecciones que amenaza la vida de los seres humanos (Rivero, 2019, p. 10).

La búsqueda de alternativas terapéuticas más seguras y efectivas es una necesidad en la actualidad, por ende, las plantas medicinales pueden ser una fuente importante de nuevos agentes antimicóticos. De hecho, se ha demostrado que muchas plantas contienen compuestos que pueden ser efectivos o incluso más efectivos que los fármacos sintéticos utilizados en el tratamiento de infecciones por hongos (Rivero, 2019, p. 10).

En el Ecuador existen aproximadamente 20000 especies vegetales, de las cuales el 20% son endémicas. Las plantas medicinales producen una gran diversidad de metabolitos secundarios con actividades biológicas, como propiedades citotóxicas, antiparasitarias, antifúngicas, antimicrobianas, entre otras, que han sido consideradas como el origen de partida del desarrollo de los medicamentos, contribuyendo al descubrimiento de nuevas sustancias con actividad biológica y la producción de fitofármacos (Paredes et al., 2015).

1.2 Justificación

La presente investigación es relevante porque se fundamenta en conocimientos ancestrales de la utilización de la medicina tradicional, se ha demostrado numerosos estudios científicos de las plantas, con el objetivo de descubrir sus posibles principios activos y por ende sus distintas propiedades curativas que tienen las plantas para la salud humana (Gallegos y Gallejos, 2017, p. 20).

Es importante estudiar los extractos vegetales por sus diversas propiedades medicinales que se da uso en la industria de alimentos, farmacéutica, de sabores/fragancias, cosmética y de productos de aseo. Los estudios farmacológicos indican su uso como antiulcerosa, antipalúdico, hipotensor, relajante muscular, cardíaco depresor, antibacteriana y antifúngica que pueden variar según las condiciones climáticas y método de extracción (Gallegos y Gallejos, 2017, p. 20).

Las diversas especies del género son ampliamente utilizadas como alternativas naturales medicinales. El *Chenopodium ambrosioides* L., planta perteneciente a la familia Chenopodiaceae, conocida comúnmente como paico. El método que se utilizó es la maceración, que consiste en colocar en un frasco ámbar la planta medicinal de paico deshidratada, molida y añadir una cantidad suficiente de solvente (etanol 96%). Al final de la extracción se realiza la concentración del extracto con el principio activo, con la ayuda del rotavapor (Espinoza 2019, p. 20).

1.3 Objetivos

1.3.1 *Objetivo general*

Determinar actividad antimicótica in vitro del extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. frente a *Candida albicans*.

1.3.2 *Objetivos específicos*

- Identificar la presencia de metabolitos en el extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico).
- Evaluar la actividad antimicótica del extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. a concentraciones de 25%, 75% y 100% sobre las cepas de *Candida albicans*.
- Comparar el efecto antimicótico de las distintas concentraciones del extracto etanólico de hojas de Paico frente a discos de sensibilidad de miconazol y fluconazol.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Referencias teóricas

2.1.1. Paico

2.1.1.1. Descripción botánica

Es una planta originaria de América, se encuentra distribuida en regiones tropicales y templadas en todo el mundo como México, Ecuador, Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Guatemala, El Salvador, Paraguay, Perú y Venezuela. Es herbácea, verde, olorosa y erecta que llega a crecer en promedio hasta los 50 a 80 cm aproximadamente hasta 1 m de altura. Tallos rectos, ramosos y vellosos. Hojas alternas, lanceoladas, dentadas. Flores de color verdoso, agrupadas en espigas compactas. Se adapta bien a terrenos arcillosos, arenosos, xerofíticos y subxerofíticos. Su ecología se relaciona con altitudes entre 0 a 2760 msnm (López et al., 2020).



Ilustración 1-2: Paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Fuente: (InfoAGRO, 2022)

2.1.1.2. Clasificación y taxonómica

Tabla 1-2: Taxonomía de la especie *Chenopodium ambrosioides* L.

Nombre científico	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.
-------------------	------------------------------------

Reino	Plantae
Familia	Chenopodiaceae
Orden	Lamiales
Género	<i>Chenopodium</i>
Especie	Ambrosioides

Fuente: (InfoAGRO, 2022)

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

2.1.1.3. *Composición y principios activos*

Composición química del paico varía según la región donde es recolectada, el clima, la madurez y el método de extracción de la planta, siendo los principales componentes el ascaridol, monoterpenos (carenos, limoneno, isolimoneno, timol, p- cimenol, carvacol, carvona, safrol, p- cimol, cineol, aritasona, mirceno, alfa-pineno, alfa – terpineno, felandreno, quenopodina, histamina, glicol), alcaloides, ácido butírico, salicilato de metilo, saponinas, sesquiterpenos, triterpenos, lípidos, flavonoides (campferol- 7- ramnosidio, ambosidio, quercetina), aminoácidos, ácidos orgánicos (cítrico, málico, vanílico, tartárico, oxálico, succínico), alcanfor, pectina, taninos, terpenos, carveno, anethole (éster fenólico) y santonina (Gutierrez, 2018, p. 30).

2.1.1.4. *Usos medicinales*

Las hojas son utilizadas para aliviar los cólicos estomacales, espasmos, hemorroides, gastritis, dismenorrea, inflamaciones de las vías urinarias, y sirve como antitusígeno. También actúa como antihelmíntico, antifúngico, purgante, diurético, hepatoprotector, antiinflamatorio, antiemético (López et al., 2020).

2.1.2. *Extracto vegetal y tipos de procesos de extracción*

La extracción con solventes de plantas es uno de los métodos más comunes para principios activos, consiste en poner en contacto la droga con el disolvente capaz de solubilizar los principios activos, de manera que se obtenga un extracto líquido, sólido o de consistencia media (Chambi y Pacheco, 2017, p. 20).

Un extracto se define como una mezcla compleja o preparaciones, que generalmente se obtiene

a partir de material vegetal seco por evaporación total o parcial de un solvente, lo cual contiene varios compuestos químicos con actividad farmacológica. Se da mediante procesos físicos, químicos y/o microbiológicos que pueden ser utilizadas en cualquier campo de tecnología (Chambi y Pacheco, 2017, p. 20).

El número de sustancias químicas (medicamentos) sintetizadas en el laboratorio aumentan constantemente, pero desfavorablemente presentan toxicidad o efectos secundarios, por lo tanto, se ha buscado una nueva estrategia en la naturaleza obteniendo nuevas estructuras, con actividad terapéutica. Según la OMS, el 25% los medicamentos comercializados actualmente en el mercado son derivados de las plantas y un 25% contienen componentes vegetales modificados químicamente (Chambi y Pacheco, 2017, p. 20).

2.1.2.1. Maceración

Es un método de extracción sólido-líquido, una de las ventajas de usar este método es el uso de solventes a partir de cualquier tipo vegetal, ya sea raíz, hojas, tallos, semillas, entre otros. Es necesario mantener en un lugar oscuro, en temperatura ambiente y el tiempo puede durar minutos o incluso varias semanas (Chambi y Pacheco, 2017, p. 20).

2.1.2.2. Hidrodestilación

Es el proceso de extracción de aceite esencial de la materia vegetal mediante el uso del vapor saturado a presión atmosférica. El material molido, entero o cortado se coloca en el hidrodestilador junto con la presión generada entra en contacto con el material vegetal, lo calienta y se produce automáticamente el aceite esencial (Chambi y Pacheco, 2017, p. 20).

2.1.2.3. Percolación

Es un método que consiste en que el material crudo previamente triturado se pone en contacto con una cantidad de solvente (generalmente alcohólico o mezcla hidroalcohólica) se lleva a cabo su renovación de forma continua. Una ventaja de este proceso es que se obtiene la mayoría de metabolitos para ser estudiados en un corto tiempo (Chambi y Pacheco, 2017, p. 20).

2.1.3. Metodología para la preparación del extracto etanólico

2.1.3.1. Etanol

El etanol (EtOH), conocido también como alcohol etílico, es un líquido incoloro, inflamable, punto de ebullición de 78°C, punto de fusión de - 114,1 °C, es soluble en agua en todas las condiciones, reacciona fuertemente con oxidantes fuertes y lentamente con óxido de plata, hipoclorito cálcico, y amoníaco (Quillay 2018, p. 25).

2.1.3.2. Extracto etanólico

Extracto con olor característico, es obtenido a partir de materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico. Estos procesos pueden ser sometidos a determinadas operaciones para eliminar algunos de sus componentes y así mejorar notablemente la calidad del producto deseado (Quillay 2018, p. 25).

2.1.4. Caracterización fitoquímica

Los metabolitos secundarios son compuestos responsables de las propiedades medicinales y farmacológicas de las plantas, se cree que hay alrededor de 170.000 metabolitos derivados de las plantas, lo que sugiere es estudiar nuevas especies de plantas para la contribución en la búsqueda de nuevos compuestos.

Las plantas son una fuente invaluable de nuevas moléculas biológicamente activas, ellas producen diversos metabolitos secundarios, muchos de los cuales presentan actividad antibacteriana y antifúngica. Entre los compuestos más conocidos se encuentran: flavonoides, fenoles, alcaloides, saponinas, triterpenos y/o esteroides y otros compuestos químicos (Ochoa et al., 2018, p. 30).

Tabla 2-2: Tamizaje fitoquímico

Metabolitos secundarios	Uso farmacológico
Flavonoides	Antiinflamatorios, antiarrítmicos, antiespódicos, antimicrobianos, antimicóticos antihemorrágicos y diuréticos.
Alcaloides	Anestésico, analgésico, delirio y alucinaciones
Saponinas	Antitusivo, expectorante, antiinflamatorio, cicatrizante, antimicrobiano, antimicóticos y antiviral.

Triterpenos y/o esteroides	Antiinflamatoria, antimicrobiana, antitumoral, antiviral y antimicóticos
----------------------------	--

Fuente: (Quillay, 2018, p. 25).

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

2.1.4.1. Flavonoides

Químicamente, estas sustancias tienen un carácter fenólico caracterizado por una estructura benzo- γ -pirano, está compuesto por dos anillos aromáticos bencénicos unidos por un puente de tres átomos de carbono, con la estructura general C6 -C3 -C6, los cuales pueden formar o no un tercer anillo y están ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Ochoa et al., 2018, p. 30).

Los flavonoides se encuentran ampliamente en la naturaleza, son los responsables del funcionamiento normal de las plantas y de los beneficios de la salud humana han sido reconocidos en varios estudios. Uno de ellos es su conocida capacidad antioxidante, en el tratamiento de enfermedades inflamatorias y cardiovasculares, ya que mejoran la circulación periférica, la movilización del colesterol y reducen la fragilidad capilar. También se han documentado sus actividades hepatoprotectoras, antialérgicas, antitrombóticas, anticancerígenas, antibacterianas y antifúngicas (Ochoa et al., 2018, p. 30).

2.1.4.2. Alcaloides

Los alcaloides son el grupo más grande y se conoce aproximadamente más de 5000 compuestos, se producen en las plantas a través de diversas rutas biosintéticas y se caracteriza porque son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en su molécula y son biológicamente activos (Reyes et al., 2020, p. 17).

Es cierto que muchos alcaloides, son compuestos químicos naturales presente en diversas plantas y pueden generar respuestas fisiológicas y psicológicas en los seres humanos, debido a su interacción con neurotransmisores. A dosis altas los alcaloides son muy tóxicos y a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajante muscular, tranquilizante, antitusivos o analgésicos. Además de sus efectos farmacológicos, los alcaloides también pueden tener funciones ecológicas en las plantas, como protegerlas de herbívoros y patógenos (Reyes et al., 2020, p. 17).

2.1.4.3. Saponinas

Las saponinas, gracias a su estructura anfifílica, pueden tener actividad contra diversos organismos como bacterias, hongos, virus y células, y su mecanismo de acción se atribuye a su actividad membranolítica (Amores, 2022, p. 21).

Las cadenas de azúcares de las saponinas, son hidrófilas, se orientan hacia la superficie de la membrana celular y crean complejos tipo micelar con el colesterol, que es un componente importante de las membranas celulares. Esto puede llevar a cabo la formación de poros acuosos en la membrana, lo que aumenta la permeabilidad y permite la entrada de iones y macromoléculas, incluyendo proteínas, a través de la bicapa lipídica. Este aumento en la permeabilidad de la membrana puede ser letal para las células, ya que puede provocar la pérdida de componentes celulares esenciales y la interrupción de las funciones celulares normales (Amores, 2022, p. 22).

Estudios recientes de las saponinas mostraron varias actividades biológicas con efectos beneficiosos para la salud incluidos los efectos antibacterianos, antifúngicos, reductor del colesterol y anticancerígenos, entre otras (Apaza et al., 2016, p. 3).

2.1.4.4. Triterpenos y/o esteroides

Los terpenos o terpenoides forman el grupo más grande de metabolitos secundarios, con más de 40.000 moléculas diferentes. Se derivan de la unión de unidades de isopreno (C₅) y que se clasifican según el número de unidades de isopreno que contienen. Tienen una gran variedad de funciones biológicas en las plantas, como la protección contra insectos y patógenos, la regulación del crecimiento y la defensa contra el estrés ambiental (Almeyda 2017, p. 4).

Es importante tener en cuenta que los terpenos son insolubles en agua, pero pueden disolverse en disolventes orgánicos como el alcohol y el éter. Un esteroide encontrado en el paico es la nandrolona y un monoterpenoide destacado es el ascaridol, responsable principal del aroma que emite la planta, del efecto tóxico y del efecto antiparasitario y antifúngico (Galindo et al., 2021, p. 10).

2.1.5. Cepa antifúngica

2.1.5.1. *Cándida albicans*

En los últimos años, la *C. albicans* es el principal patógeno asociado con la candidiasis, una enfermedad infecciosa que puede variar desde lesiones cutáneas mucosas superficiales hasta formas sistémicas generalizadas y potencialmente mortales. Es una levadura dimórfico, es decir, que se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento, como levadura, normalmente a 37°C en el huésped y como hongo de aspecto filamentoso a 25°C en la naturaleza que se comporta como un parásito patógeno produciendo síntomas en el huésped. Su reproducción es por medio de esporas inmóviles (sexuada o asexuada) (Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo, 2021).

Candida albicans es un hongo comensal es importante destacar que la relación comensal entre *C. albicans* y el huésped siempre depende de un equilibrio entre el sistema inmunológico del huésped y los factores de virulencia del hongo. En condiciones normales, el sistema inmunológico puede controlar la colonización y evitar la infección por *C. albicans*. Por lo tanto, mantener una microbiota saludable y un sistema inmunológico fuerte es clave para prevenir y tratar la candidiasis (Bermúdez et al., 2018, p. 86).

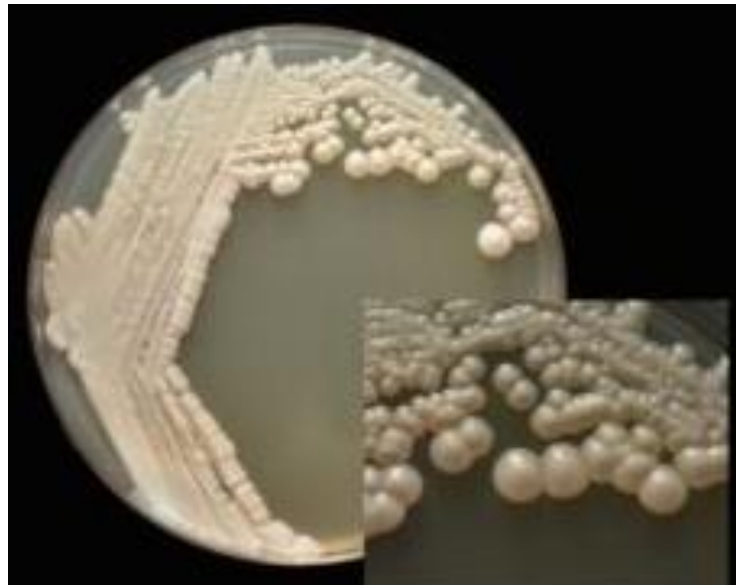


Ilustración 2-2: Cepa de *Candida albicans*.

Fuente: (Aryal, 2022)

2.1.5.2. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *Candida albicans* se muestra de la siguiente manera:

Tabla 3-2: Clasificación taxonómica de *C. albicans*

Dominio	Eucarya
Reino	Fungi
División	<i>Deuteromycota</i>
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase	<i>Blastomycetes</i>
Familia	<i>Criptococcaceae</i>
Género	<i>Candida</i>
Especie	<i>C. albicans</i>

Fuente: (Canela, 2017, p. 2)

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

2.1.5.3. Características microbiológicas

Posee paredes celulares, la cápsula puede estar presente o ausente, la membrana celular contiene mesosomas y citocromo P450 para la síntesis de ergosterol y en el citoplasma contiene ribosomas 80S, el retículo endoplasmático con micro vesículas, nucléolo, mitocondrias y membranas (Bermúdez et al., 2018, p. 86).

Se desarrollan en medios artificiales a temperaturas entre 5 y 45° C y a un pH de 2 y 8, por lo que requieren agua, sales, fuente de nitrógeno y fuente de carbono. Bajo el microscopio se encuentra en forma de levadura presenta un aspecto de células redondas u ovaladas de 3-8 x 2-7 micras de tamaño, agrupadas en pequeños grupos, mientras que, en forma de hongo filamentoso, las células son alargadas y se diversifican tomando la apariencia de filamentos, pseudo-hifas o pseudo-micelio (Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo, 2021).

2.1.5.4. Factores de virulencia

Este microorganismo posee gran facilidad para crecer y multiplicarse, siendo el mayor factor de virulencia de este hongo, tiene la capacidad para adherirse tanto a células del hospedador como a otros microorganismos, además, su capacidad de adherirse en materiales inertes y colonizarlos (Valverde 2017, p. 27).

La candidiasis es una infección oportunista, que ataca cuando el sistema inmunológico del paciente está debilitado. Los factores que predisponen a la Candidiasis incluyen: defensa reducida del hospedador, donde encontramos a personas portadoras de VIH, pacientes con diabetes mellitus, pacientes tratadas con radioterapia y quimioterapia (Valverde 2017, p. 27).

Existen diversos factores potenciales de virulencia, como la morfología celular, la actividad enzimática extracelular, el cambio fenotípico y los factores de adhesión, que favorecen la formación de biopelículas (Valverde 2017, p. 27).

- *Morfogénesis*

La conversión de levadura a hifa representa el factor de virulencia más relevante de la *C. albicans*. Ambas formas son importantes para la patogenicidad, ya que las levaduras que se encuentran libres ayudan a la propagarse en diferentes lugares para su infección, mientras que las hifas son más invasivas y promueven al daño tisular en el huésped. Las diferentes formas en las que se presentan depende de las condiciones ambientales como: pH, temperatura, composición del medio, presión del CO₂, etc. (Chicaiza, 2019, p. 23).

- *Formación de biopelículas*

La formación de biopelículas de *C. albicans*, comienza cuando la levadura se adhiere a la superficie tisular y en el cabo de 8 -11 horas se encuentra en etapa temprana, intermedia después de 12 a 30 horas y madura de 38-42 horas. Cuando está madura presenta una red densa de hifas, pseudohifas, levaduras, recubierta de una matriz extracelular y asociada a bacterias. La formación de la biopelícula de *C. albicans* consta de cuatro fases temporales: adhesión a la superficie, proliferación para formar una capa basal de anclaje de células, crecimiento de pseudohifas e hifas y la propagación lenta de células (levadura) para sembrar nuevos sitios (Chicaiza, 2019, p. 23).

- *Matriz extracelular*

La biopelícula madura de *C. albicans* está encerrada en un material complejo llamado matriz

extracelular, dentro de ella se encuentran carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos, glucosa, fósforo y ácido urónico. Además, debido a que sintetiza B 1-3 glucano se le atribuye la capacidad de resistir a fármacos específicos (Chicaiza, 2019, p. 24).

- *Capacidad invasora de hifas*

Durante la patogenia de la *C. albicans* se puede observar una cierta invasión de las células huésped y se puede encontrar hifas dentro de las células, indicando que esta forma es la más invasiva, para penetrar el epitelio las hifas deben hacerlo más rápido que la descamación normal de la piel, para evitar el desprendimiento. Para la invasión del hongo se utiliza dos mecanismos: la endocitosis inducida que es utilizada por las células hospedadoras independiente de la viabilidad de la célula de la candida, y la penetración activa causada por hongos independientemente si la célula huésped este viva o no. Debido a las mismas propiedades, esto se indica específicamente en el epitelio oral (Chicaiza, 2019, p. 24).

2.1.6. Actividad antimicótica

El concepto de agente antimicótico o antifúngico, incluye cualquier sustancia capaz de alterar las estructuras de la célula fúngica que puede inhibir el desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad para sobrevivir, bien directa o indirectamente, lo que facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del huésped (García et al., 2016, p. 10).

La medicina tradicional utiliza muchos extractos de diferentes plantas para el tratamiento de todo tipo de infecciones y muchos de los cuales han sido evaluados para determinar la eficacia in vitro. Se informa que 284 compuestos divididos en 11 tipos tienen actividad fungicida, entre este tipo de compuestos, tres fueron los más mencionados: compuestos fenólicos (47%), los terpenoides (29%) y los alcaloides (11%). Además, 123 compuestos fenólicos, 80 terpenoides, y 30 alcaloides con actividad fungicida son mencionados en la literatura. Y 1064 especies de plantas, distribuidas en 150 familias, tienen actividad antifúngica (García et al., 2016, p. 11).

2.1.7. Antifúngicos

2.1.7.1. Miconazol

El miconazol es un antifúngico imidazólico, pertenece al grupo de los azoles. Se utiliza por vía tópica y por vía vaginal. Presenta amplio espectro, incluyendo candidas y dermatofitos, así como gran número de cepas bacterianas grampositivas (AEP, 2021, p. 1).

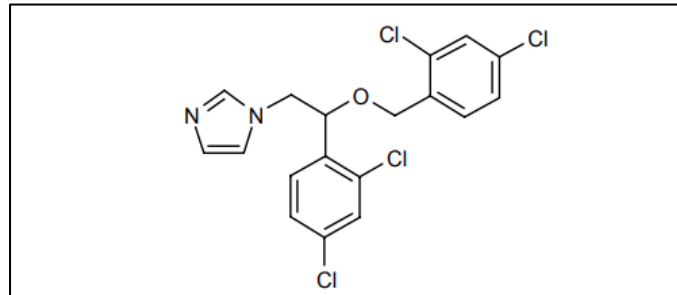


Ilustración 3-2: Estructura química del Miconazol

Fuente: (AEP, 2021, p. 1)

2.1.7.2. Mecanismo de acción

El miconazol actúa alterando las membranas celulares de los hongos. Inhibe la síntesis de ergosterol al interactuar con desmetilasa 14-alfa, una enzima del citocromo P-450 que convierte el lanosterol en ergosterol, un componente importante en la membrana celular. Mediante este mecanismo, el ergosterol, que es el esteroles principal en la membrana celular de los hongos, debido a la falta de ergosterol se comienza a acumular esteroides tóxicos, aumenta la permeabilidad celular de la membrana lo que provoca la filtración de los contenidos celulares e interrumpe el crecimiento del hongo (AEP, 2021, p. 1).

2.1.7.3. Fluconazol

Pertenece al grupo de los azoles, a la clase de los triazoles. Su espectro de acción incluye: *Candida albicans* y otras especies de *Candida*. Se encuentra en formulación intravenosa y oral. Su absorción oral es buena. Tiene una semivida biológica de 18 horas en niños y una fijación proteica baja. Su difusión es satisfactoria incluso al sistema nervioso central en ausencia de meninges inflamadas. Su metabolismo es hepático y su eliminación renal.

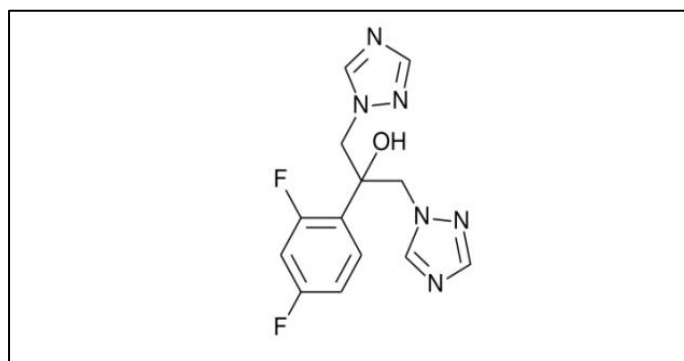


Ilustración 4-2: Estructura química del Fluconazol

Fuente: (AEP, 2020, pp. 1–3)

2.1.7.4. Mecanismo de acción

El fluconazol inhibe la síntesis del ergosterol al interactuar con desmetilasa 14-alfa, una enzima del citocromo P-450 que se necesita para convertir el lanosterol a ergosterol, un componente esencial de la membrana. La inhibición de la síntesis de ergosterol da como resultado en un aumento de la permeabilidad celular lo que provoca fugas del contenido celular. Se han propuesto otros efectos antifúngicos de compuestos de azol que incluyen: inhibición de la respiración endógena, la interacción con los fosfolípidos de membrana, y la inhibición de la transformación de levaduras a las formas de micelio (AEP 2020, pp. 1–3).

2.1.8. Método de sensibilidad

Actualmente, las investigaciones se centran en terapias alternativas como extractos de plantas, aceites esenciales, metabolitos secundarios u otras nuevas moléculas sintetizadas con el objetivo de ser utilizados en una variedad de métodos de laboratorio para evaluar o analizar la actividad antimicrobiana o antifúngico *in vitro*, mediante los siguientes métodos: la difusión en disco, la difusión de pozos y la dilución en caldo o en agar (Vazquez 2022, p. 1).

2.1.8.1. Método de difusión en disco

También es conocido como prueba de Kirby-Bauer es adecuado para los microorganismos crezcan rápido, se basa en la colocación de discos impregnados con antibióticos o extractos en placas de agar inoculadas con el microorganismo que está probándose. Después de la incubación, se mide el diámetro de la zona de inhibición que rodea a cada disco. La prueba es

rápida, práctica y reproducible, son producidos por casas comerciales bajo un riguroso protocolo de control internacional. Para que los resultados del antibiograma sean realmente confiables es necesario que los discos se conserven refrigerados de 4-5°C. o almacenados a -20°C. Los resultados generalmente se informan de las siguientes formas (Vazquez 2022, p. 1):

- Susceptible (S)
- Intermedia (I)
- Resistente (R)

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Descripción del proceso

El presente trabajo es de tipo experimental, a continuación, se detalla los resultados obtenidos durante la investigación. Se seleccionó la materia prima en buenas condiciones, en este caso las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L., luego se procedió al secado, molienda de las hojas y a partir de la maceración se obtuvo el extracto etanólico de las hojas de paico con una concentración de 96%, además, se realizó el tamizaje fitoquímico de los metabolitos secundarios más importantes, se calculó el porcentaje cenizas y de rendimiento. Por último, se realizó el análisis microbiológico, mediante el método de Kirby Bauer se evaluó el efecto antimicótico del extracto etanólico de paico en las diferentes concentraciones 25 %,75 % y 100%, se midió los halos de inhibición y se comparó las diferentes concentraciones con los discos de sensibilidad de miconazol y fluconazol.

3.2. Materiales

Tabla 1-3: Listado de materiales, equipos y reactivos utilizados.

EXTRACTO ETANÓLICO DE PAICO		
MATERIALES	REACTIVOS O SUSTANCIAS	EQUIPOS
- Hojas de paico	- Etanol al 96 %	- Balanza digital
- Varilla de agitación	- Agua destilada	- Balanza analítica
- Probeta de 100 ml		- Estufa
- Papel aluminio		- Reverbero
- Pinzas de sujeción		- Embudo de Büchner
- Liencillo o tela de filtro		- Rotavapor
- 2 botellas ámbar grande		- Molino de cuchillas
- Matraz Kitasato		
- Papel filtro redondo		
- Funda de papel		
- Embudo simple		
- Embudo büchner		
- Cono de goma		
- Manguera o tubo		
CENIZAS TOTALES Y TAMIZAJE FÍTOQUÍMICO DEL EXTRACTO VEGETAL		
- Vaso de precipitación de 500 ml	- Extracto etanólico de las hojas de paico	- Reverbero
		- Estufa

- 6 tubos de ensayo	- Ácido clorhídrico concentrado	- Balanza analítica
- Gradilla	- Cinta de magnesio metálico	- Mufla
- Pipeta graduada de 10 ml	- 1 ml de alcohol amílico	- Desecador
- Pera de succión	- 1 ml de ácido clorhídrico al 1 % en agua	
- Pinza para tubos	- Reactivo de Dragendorff	
- Probeta de 50 ml	- Cloruro de sodio	
- Crisol	- Reactivo de Mayer	
	- Reactivo de Wagner	
	- Agua destilada	
	- Cloroformo.	
	- 1 ml de anhídrido acético	

ELABORACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICÓTICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PAICO

MATERIALES	REACTIVOS O SUSTANCIAS	EQUIPO
<ul style="list-style-type: none"> • 5 tubos eppendorf • Cepa bacteriana de <i>Candida albicans</i> ATCC. • Matraz Erlenmeyer de 500 ml. • Matraz Erlenmeyer de 100 ml. • Pera de succión • 1 tubo de ensayo • Pipeta graduada de 5 ml. • Vidrio reloj. • Probeta de 100 ml • Papel aluminio • Asas metálicas. • Cajas Petri desechables. • Algodón • Discos en blanco de papel filtro • Discos de sensibilidad de fluconazol 10 µg y miconazol 50 µg. 	<ul style="list-style-type: none"> • Extracto etanólico de las hojas de paico en concentraciones de 25 %, 75% y 100%. • Agar Dextrosa Sabouraud con Cloranfenicol • Etanol 96% • Agua destilada • DMSO 	<ul style="list-style-type: none"> • Estufa • Balanza analítica • Autoclave • Incubadora • Refrigeradora

Realizado por: Supe, Jennifer 2023.

3.3. Normas y enfoque de investigación

El enfoque de esta investigación es cuantitativo, porque se determinó el efecto antimicótico del

extracto etanólico de paico en concentraciones de 25%, 75% y 100%, fluconazol y miconazol frente a *C. albicans*, los resultados se obtuvieron mediante la medición de los halos de inhibición, que deben ser analizados mediante el método estadístico (ANOVA) y cualitativo debido al tamizaje fotoquímico que se realizó del extracto etanólico de paico.

3.4. Alcance y diseño de la investigación

El trabajo experimental propuesto es correlacional, debido a que se va analizar el comportamiento de las variables de estudio. También, es explicativo, porque se va analizar lo que sucedió en el acontecimiento y se valoró la actividad antimicótica del extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. contra la cepa de *Candida albicans* ATCC. Y comparativo porque se comparó los valores obtenidos de las diferentes concentraciones con las variables de control: fluconazol y miconazol.

3.5. Tipo de investigación

La presente investigación es experimental, ya que mide el efecto que la variable independiente ejerce sobre la dependiente. En cuanto a la variable independiente se refiere a las distintas concentraciones preparadas (25%, 75%, 100%) del extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L., y la variable dependiente es la actividad antimicótica.

3.6. Métodos

3.6.1. Método de extracción del extracto etanólico de paico

Para la obtención del extracto etanólico de las hojas de paico, se trabajó a nivel laboratorio, el proceso se describe en 3 fases:

- Pre-tratamiento
- Extracción alcohólica total
- Filtración

3.6.1.1. Pre-tratamiento

- *Recolección de las hojas de paico*

Se recolectó las hojas frescas de paico en la parroquia de Picaihua, ubicado al norte de la ciudad

de Ambato, provincia de Tungurahua, e inmediatamente fue transportado al laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

- *Lavado*

Se realizó el lavado de las hojas de paico con agua destilada para eliminar la presencia de posibles impurezas o residuo que posee la materia vegetal.

- *Secado y molienda*

Una vez lavadas las hojas de paico, se procedió a colocar en las bandejas y se llevó a la estufa a 45° C. durante 24 horas hasta su deshidratación completa. Luego, la muestra vegetal seca se llevó al Laboratorio de Procesos Unitarios para moler mediante la utilización del molino de cuchilla giratoria, logrando así obtener partículas de menor tamaño, se conservó y se almacenó la muestra vegetal en un lugar libre de humedad y sin contacto con la luz.

3.6.1.2. Extracción alcohólica total

- *Maceración*

En cada frasco ámbar se agregó la muestra pesada y pulverizada de paico por cada 200 gr. se le agregó 500 ml de extracto etanólico al 96% (en los dos frascos), se forro con papel aluminio para su conservación, se mantuvo el macerado en un lugar seco y fresco, alejado de la luz, durante un período de 7 días y se agitó tres veces al día (Espinoza 2019, p. 20).

3.6.1.3. Filtrado

El extracto etanólico con la muestra vegetal se filtró al vacío donde se utilizó un embudo de Büchner, matraz Kitasato, cono de goma, bomba de sección, tubo, papel filtro redondo, donde la muestra vegetal quedó en la parte superior del papel filtro. Y por último, la muestra filtrada se colocó en el rotavapor para recuperar el solvente y obtener el extracto (Espinoza, 2019, p. 20).

3.6.2. Porcentaje de rendimiento

El cálculo de rendimiento de la preparación de los extractos se realiza según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{g del extracto total}}{\text{g de muestra vegetal inicial}} \times 100\% \quad (\text{Ec.1})$$

3.6.3. *Determinación de cenizas totales*

Para la determinación de cenizas totales se utilizó como referencia la Farmacopea Argentina (ANMAT, 2013, p. 28).

- Se pesó 2,0 g de material previamente tamizado y seco en un crisol, que estaba tarado.
- Se sometió a calentamiento en la estufa.
- Posteriormente se colocó el crisol en la mufla a 675°C. durante 3 horas para eliminar residuos carbonosos
- Y finalmente se dejó enfriar el crisol en el desecador y se pesó. El criterio de aceptación es no más de 12%.
- El proceso se realizó por triplicado y para los cálculos se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{(M2-M)}{M1-M} \times 100\% \quad (\text{Ec.2})$$

Dónde:

M: Peso en gr. del crisol vacío.

M1: Peso en gr. de la muestra vegetal.

M2: Peso en gr. del crisol vacío + muestra calcinada.

3.6.4. *Tamizaje fitoquímico del extracto vegetal*

El tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico es la fase inicial de la investigación fitoquímica, que facilita la identificación cualitativa de los grupos químicos presentes en la planta con los solventes adecuados para determinar la reacción de color y precipitación (Balseca, 2017, pp.3).

Tabla 2-3: Determinación de los metabolitos secundarios.

METABOLITO SECUNDARIO	MÉTODO
Flavonoides	Ensayo de Shinoda
Alcaloides	Ensayo de Dragendorff Ensayo de Mayer Ensayo de Wagner
Saponinas	Ensayo de espuma
Triterpenos y/o esteroides	Ensayo de Liebermann-Burchard

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

3.6.4.1 *Ensayo para el reconocimiento de flavonoides: Ensayo de Shinoda*

- Se agregó 2 ml del extracto etanólico de paico, se diluyó con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedazo de cinta de magnesio metálico.
- Después de la reacción se esperó 5 minutos, se añadió 1 mL de alcohol amílico, y se dejó reposar hasta que se separen.
- El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos (Dueñas et al., 2020, p. 5).

3.6.4.2 *Ensayo para el reconocimiento de Alcaloides:*

Ensayo de Dragendorff

- En un tubo de ensayo se colocó 2 ml del extracto etanólico de la hoja de paico.
- Se evaporó en baño María y luego se agregó 1 ml ácido clorhídrico al 1 %.
- Añadió 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++) (Dueñas et al., 2020, p. 5).

Ensayo de Mayer

- Se procedió de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida.
- A continuación, se añadió una pizca de cloruro de sodio en polvo, agitar y filtrar.
- Añadir 3 gotas del reactivo de Mayer, si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++) (Dueñas et al., 2020, p. 5).

Ensayo de Wagner

- Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida.
- Se añadió 3 gotas del reactivo de Wagner, clasificando los resultados de la misma forma (Dueñas et al., 2020, p. 5).

3.6.4.3 *Ensayo para el reconocimiento de Saponinas: Ensayo de Espuma*

- En un tubo de ensayo se colocó 2 ml del extracto etanólico de la hoja de paico
- Se adicionó 5ml de agua destilada al tubo.

- Y se le agitó la mezcla fuertemente durante 5 minutos.
- El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos (Dueñas et al., 2020, p. 5).

3.6.4.4 *Ensayo para el reconocimiento de Triterpenos y/o esteroides: Liebermann-Burchard.*

- En un tubo de ensayo se colocó 2 ml del extracto etanólico de la hoja de paico.
- Se evapora en baño María y el residuo debe redisolverse en 1 ml de cloroformo.
- Se adicionó 1 mL de anhídrido acético y mezclar.
- Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar.
- Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:
- Rosado-azul, muy rápido.
- Verde intenso-visible, aunque rápido.
- Verde oscuro-negro, final de la reacción (Dueñas et al., 2020, p. 5).

3.6.5. *Análisis microbiológico*

3.6.5.1. *Etapa 1: Reactivación y cultivo de la cepa C. albicans*

La cepa de *C. albicans* ATCC 10231, fue adquirida en el laboratorio KWIK-STIK de la ciudad de Quito-Ecuador, se hidrató la cepa, según lo que reporta la casa comercial:

- Se retiró la unidad de KWIK-STIK y la etiqueta.
- Con el borde de la mesa de trabajo, se rompió la ampolla en la parte superior del KWIK-STIK para liberar el líquido de hidratación.
- Se sostuvo verticalmente para facilitar el flujo del líquido a través del eje hacia la parte inferior de la unidad donde está contenida la microesfera, hasta que este se disuelva.
- A continuación, se tomó el hisopo con el material hidratado y se transfirió al medio de agar Dextrosa Sabouraud con Cloranfenicol por estriamiento.
- Inmediatamente se incubó a 37° C por 48 horas.

3.6.5.2. *Etapa 2: Preparación de los medios de cultivos*

Se trabajó con Agar Dextrosa Sabouraud con Cloranfenicol para *C. albicans*.

- Se pesó en una balanza de precisión la cantidad de agar necesario y se colocó en el matraz Erlenmeyer.
- Traspasó agua destilada al matraz Erlenmeyer y se selló con algodón y gasa.
- Se disolvió el medio de cultivo en el agua destilada por 5 minutos.
- A continuación, se llevó a esterilizar en la autoclave por un período de 30 minutos a 121°C.
- Pasado ese tiempo, se retiró los agares de la autoclave y se dejó en reposo hasta que se enfrió.
- Se procedió a colocar los medios de cultivos en las cajas Petri esterilizadas y el mechero en la cabina de seguridad y por último se agregó el agar en las cajas Petri.

3.6.5.3. *Etapa 3: Para la preparación de las diferentes concentraciones del extracto etanólico*

$$C1 \times V1 = C2 \times V2 \quad (\text{Ec. 3})$$

Despejando V1 en la Ec.3 se tiene lo siguiente:

$$V1 = \frac{C2 \times V2}{C1}$$

Dónde:

C1 = Equivale al 100% de la concentración inicial.

C2 = Concentración a la que queremos llegar 25%, 75% y 100%.

V1 = Cantidad de ml de extracto etanólico *C. ambrosioides* L. de que debemos añadir para las concentraciones.

V2 = Cantidad inicial en ml (1 ml).

Concentración al 25%

$$V1 = \frac{25 \% \times 1 \text{ ml}}{100 \%}$$

$$V1 = 0.25 \text{ ml}$$

Se agregó 250 µL del extracto etanólico de las hojas de paico y 750 µL de DMSO.

$$ppm = \frac{250 \mu\text{L}}{0,001 \text{ g}} = 250,000 \text{ ppm}$$

Concentración al 75%

$$V1 = \frac{75 \% \times 1 \text{ ml}}{100 \%}$$

$$V1 = 0.75 \text{ ml}$$

Se agregó 750 µL del extracto etanólico de las hojas de paico y 250 µL ml de DMSO.

$$ppm = \frac{750 \mu\text{L}}{0,001 \text{ g}} = 750,000 \text{ ppm}$$

Concentración al 100%

$$V1 = \frac{100 \% \times 1 \text{ ml}}{100 \%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Se agregó 1000 µL de extracto etanólico de hojas de paico.

$$ppm = \frac{100 \mu\text{L}}{0,001 \text{ g}} = 1000.000 \text{ ppm}$$

Tabla 2-3: Concentración del extracto etanólico de hojas de paico en ppm.

N°.	Dilución	Concentración %	Concentración ppm
1	1/25	25	250.000
2	1/75	75	750.000
3	1/1	100	1000.000

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

3.6.5.4. Etapa 4: Preparación de la escala de McFarland

McFarland es una escala de turbidez, que se utiliza en Microbiología para estandarizar las concentraciones de una suspensión bacteriana o fúngica para saber las unidades formadoras de colonias (UFC), según la escala de 0.5 que contiene aproximadamente 1×10^7 UFC.

Se realizó las diluciones el ácido sulfúrico (H₂SO₄) se encuentra al 98.08%, lo que se requiere 1% y el cloruro de bario (BaCl₂) se encuentra al 100% lo que se solicita al 1.175%, por lo que se realizó los cálculos correspondientes:

$$Vi \times Ci = Vf \times Cf \quad (\text{Ec. 3})$$

Despejando V1 de la Ec.3 se tiene lo siguiente:

$$Vi = \frac{Vf \times Cf}{Ci}$$

H₂SO₄

Dónde:

C_i = Equivale a la concentración inicial del H₂SO₄.

C_f = Concentración a la que queremos llegar 1%.

V_i = Cantidad de ml de H₂SO₄ que debemos añadir a la concentración.

V_f = Cantidad inicial en ml (100 ml).

$$Vi = \frac{100 \text{ ml} \times 1 \text{ gr } (\%)}{98.08 \text{ gr}}$$

$$Vi = 1.02 \text{ ml}$$

BaCl₂

Dónde:

C_i = Equivale a la concentración inicial del BaCl₂.

C_f = Concentración a la que queremos llegar 1.175 %.

V_i = Cantidad gramos de BaCl₂ que debemos añadir a la concentración.

V_f = Cantidad inicial en ml (100 ml).

$$Vi = \frac{100 \text{ ml} \times 1.175 \%}{100 \%}$$

$$Vi = 1.175 \text{ gr}$$

Tabla 3-3: Escala de McFarland

Escala de McFarland	H ₂ SO ₄ 1%	BaCl ₂ 1.175%	Volumen total
0.5	0.05 ml	9.95 ml	10 ml

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

- Se esterilizó el asa metálica en una llama de mechero de Bunsen y luego se dejó enfriar.
- Se tomó el inoculo con el asa metálica y se diluyó en el tubo de ensayo de vidrio con agua destilada esterilizada hasta conseguir una turbidez igual a la escala 0,5 McFarland (1 x 10⁷ UFC/ml) en hongos.
- Taponar el tubo con una gasa estéril.
- Se sembró el hongo en las cajas Petri preparadas con el Agar Dextrosa Sabouraud con Cloranfenicol, utilizando hisopos estériles, mediante una serie de estrías paralelas (Jarrin 2018, p. 36).

3.6.5.5. Etapa 5: Evaluación del efecto antimicótico del extracto etanólico de paico

El principio básico de este método consiste en colocar discos empapados con el antibiótico o sustancia a investigar la cual toma contacto con la superficie húmeda del agar. Se colocaron 20 microlitros de cada uno de los extractos en los discos blancos. Con una pinza estéril sobre cada placa de Agar Dextrosa Sabouraud con Cloranfenicol previamente inoculado con *Candida albicans*. Se distribuyó de la siguiente manera:

- 5 discos impregnados con extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. al 25%
- 5 discos impregnados con extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. al 75%.
- 5 discos impregnados con extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. al 100%.
- 5 discos de sensibilidad de Fluconazol de 10 µg
- 5 discos de sensibilidad de Miconazol 50 µg.

Se llevó a incubación por 24 horas a 37°C, para posteriormente revisar el efecto producido sobre el hongo mediante el halo de inhibición (García et al., 2016, p. 113).

3.6.5.6. Etapa 6: Medición de los halos de inhibición

La lectura e interpretación de los resultados, se llevó a cabo luego de las 24 horas de incubación se midió los halos de inhibición que se forman alrededor de cada uno de los discos colocados en el medio sólido. El Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos (NCCLS) de los Estados Unidos de Norteamérica, estableció valores de referencia para las zonas de inhibición para el fluconazol y miconazol, dividiéndolas en tres categorías: sensibles (S), intermedio o dosis dependiente (I) y resistente (R). Tabla 4-3 (Pinoncely 2010).

Tabla 4-3: Valores de referencia del diámetro de halos de inhibición con antifúngicos.

Respuesta	Miconazol	Fluconazol
Sensible	≥20	≥19
Intermedio	12 a 19	15 a 18
Resistente	≤11	≤14

Fuente: (Pinoncely, 2010)

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

3.7. Técnicas e instrumentos de la investigación

En la está investigación se aplicó la técnica de observación y medición de los halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de paico y como instrumento se utilizó la bitácora de laboratorio donde se anotó todos los resultados obtenidos.

3.8. Análisis estadístico e interpretación de los datos

Para determinar la relación de la actividad antimicótica del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. frente a *C. albicans* se realizó un diseño experimental con 5 repeticiones cada uno, que permitió comparar las 3 concentraciones con los discos de sensibilidad del miconazol y fluconazol, como se detalla a continuación:

Tabla 5-3: Muestras utilizadas para la inhibición antifúngico.

Muestras					
Cepa	25%	75%	100%	Fluconazol	Miconazol
<i>C. albicans</i>	5 R	5 R	5 R	5 R	5R

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

Los datos obtenidos de la medición de los halos de inhibición se registraron en una hoja de recolección de datos y tabulados en una hoja Microsoft Excel, realizando la estadística descriptiva, considerando la media, la frecuencia y la desviación estándar, aplicando las pruebas ANOVA, con un nivel de significancia de 95% y un error de 5%.

3.9. Esquema del proceso del análisis antimicótico del extracto etanólico de las hojas de paico frente a *C. albicans*

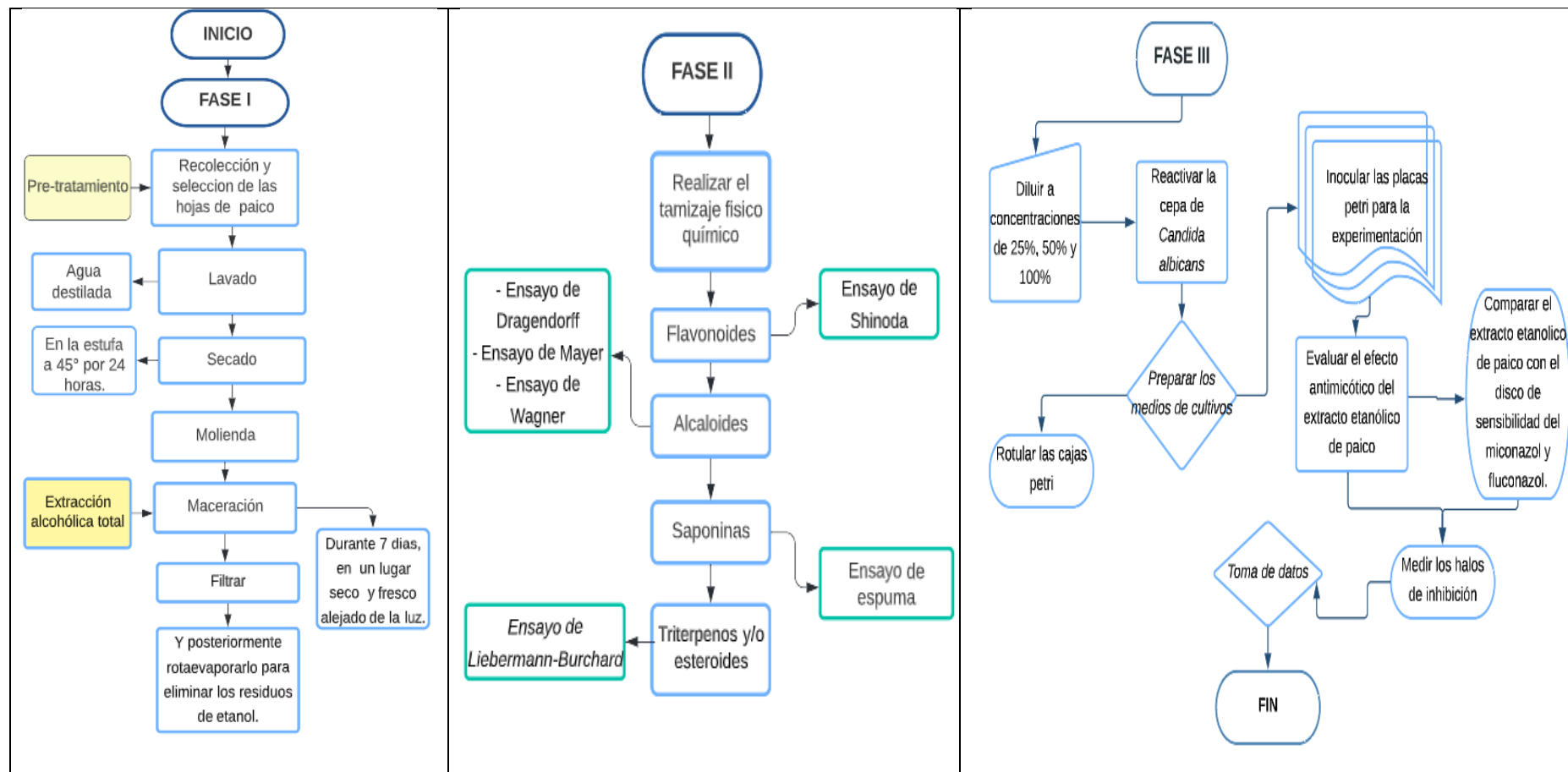


Ilustración 1-3: Análisis antimicótico del extracto etanólico de hojas de paico

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

CAPÍTULO IV

4.

5. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

6.

Para esta investigación se recolectó únicamente las hojas de la especie *Chenopodium ambrosioides* L. “paico”, proveniente de la provincia de Tungurahua, en la parroquia de Picaihua- San Juan, en el Cantón Ambato, con coordenadas (S 1° 14' 56.7"; O 78° 37.005'), se recolectó en el mes de noviembre del 2022.

7.

El material vegetal *Chenopodium ambrosioides* L. fue identificado en el Herbario de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, con la ayuda del Ing. Jorge Caranqui, en el cual se observó las características organolépticas de la hoja de paico.

Tabla 1-4: Características organolépticas de la hoja de Paico.

Parámetro	Hoja de paico
Forma	Lanceolada, dentada en los bordes
Tamaño	Entre los 3 cm y los 6 cm
Color	Verdoso
Olor	Característico de la planta

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

8.

8.1. Porcentaje de rendimiento

Tabla 2-4: Porcentaje de rendimiento de las hojas de la especie *Chenopodium ambrosioides* L.

Peso Del material vegetal (Mo) (gr.)	3.500 gr.	Masa del extracto etanólico (Mext) (gr.)	500 gr.
--------------------------------------	-----------	--	---------

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

8.2. Rendimiento del proceso para la obtención del extracto etanólico de hojas de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

El rendimiento del proceso para la obtención del extracto etanólico de hojas de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es de 14,28 %, es un rendimiento bajo, pudiendo asumirse a diferentes parámetros que se manejó en el proceso de elaboración del extracto, como las condiciones agroecológicas del cultivo, ya que inducen a cambios morfológicos, fisiológicos e histológicos en la planta y a los parámetros operacionales de extracción: la temperatura de extracción, el tiempo y la cantidad de sustancia química empleada (Gutierrez 2018, p. 50).

El rendimiento del proceso para la obtención del extracto etanólico de paico fue de 10,83 %, es un rendimiento bajo, que se debe a diferentes factores antes mencionados (Gutierrez 2018, p. 50).

Se obtuvo el extracto etanólico de paico por el método de extracción de Soxhlet a partir de 150 gramos de hojas secas trituradas de material biológico dando como resultado un rendimiento promedio de $4.91 \pm 0.29\%$ de extracto seco (Yauri y Chambilla, 2018, p. 58).

En una investigación se determinó el rendimiento porcentual de 15.67% usando el método de extracción por Soxhlet, pero como solvente uso al éter de petróleo (Chambi y Pacheco, 2017, p. 74). En una investigación similar sobre el porcentaje de rendimiento de extracto etanólico de hojas de paico dio como resultado el 32.4%, en el cual se utilizó etanol al 70% por maceración, además, indica que se necesita poca muestra de la planta para obtener una buena cantidad de extracto (Oviedo y Aiquipa, 2011, p. 80).

8.3. Cenizas totales

9.

Tabla 3-4: Resultados de porcentaje de cenizas totales del extracto etanólico de hoja de paico

	Cápsula 1	Cápsula 2	Cápsula 3
Masa del crisol vacío (g) (M)	38,4900	38,4932	38,4925
Muestra (g) 2 ml= 2 gr.	2,0000	2,0000	2,0000
Masa de la cápsula con muestra (g) (M1)	40,4903	40,4930	40,4926
Masa de la cápsula con la ceniza (g) M2	38,5353	38,5390	38,5381
Porcentaje de cenizas totales (C) %	2,2646	2,2902	2,1428

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

Promedio de C= 2.2325 %

9.1.1. Cenizas totales presentes en el extracto etanólico de hojas de paico

Las cenizas totales se determinan por el método gravimétrico, que determina la cantidad de sustancias inorgánicas presente en la droga vegetal como: metales pesados, sales, arena etc., que pueden afectar la calidad de la misma, destruye la materia orgánica presente en la muestra por calcinación (Cabrera et al., 2012, p. 270).

El porcentaje de cenizas totales en el extracto etanólico de hojas de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) obtuvo como resultado 2,2 % (Tabla 3-4); según lo establecido para el análisis físico-químico, el porcentaje de cenizas totales en el paico es hasta el 12 %; por lo tanto, el porcentaje de cenizas totales en este estudio presentó bajos niveles de sustancias inorgánicas (Hernández, 2021, p. 1).

El porcentaje de ceniza total en el paico fue de 2.8%, que posee una baja cantidad de minerales, debido a en el cultivo se utilizó abono orgánico; por ende favoreció la pureza de la droga para preparar el extracto y al comparar con este estudio hay una pequeña variación, pero ambos pertenecen dentro del rango establecido (Ibarra y Paredes, 2013, p. 42).

10.

10.1. Identificación de metabolitos secundarios: tamizaje fitoquímico

11.

El tamizaje fitoquímico como se mencionó anteriormente, se basa en la tipificación de los metabolitos secundarios presentes en los extractos, mediante reacciones y análisis químicos explicados en la literatura (Pujol et al. 2020, pp.3).

Tabla 4-4: Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* L.

GRUPO DE COMPUESTOS	ENSAYO	INDICADORES	EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE PAICO
Flavonoides	Shinoda	Flavonoles (Rojo)	(++)
		Flavonas (Naranja a rojo)	(-)
		Flavononas (Magenta)	(-)
Alcaloides	Dragendorff	Opalescencia (+)	(-)
	Mayer	Turbidez definida (++)	(-)
	Wagner	Precipitado (+++)	(-)
Saponinas	Espuma	Presencia de espuma por más de 2 min.	(+++)
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman	Esteroles (Violeta, verde, negro o azul)	(++)
	Bouchard	Esteroides (Azul o verde)	(-)
		Triterpenos (Rosa, rojo o magenta)	(-)

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

En el análisis fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico), se realizó de acuerdo a los ensayos correspondientes para cada prueba, en la tabla N° 4-4, hay presencia de flavonoides (flavonoles), triterpenos y/o esteroides (esteroles) y saponinas y no contiene alcaloides. La actividad fungicida y bactericida de estos metabolitos secundarios está relacionada con la sobrecarga de las membranas celulares de los microorganismos de tal

forma que hace perder su control e integridad (Yáñez, 2014).

Se ha reportado que el extracto de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) contiene aceites esenciales, alcaloides, taninos, flavonoides y esteroides lo cual coincide con los resultados de esta investigación experimental, los cuales conjuntamente son capaces del inhibir el crecimiento microbiano y micótico (Félix et al., 2012, p. 549).

El ensayo se consideró de alta evidencia por el apareamiento de espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos, lo cual coincide con los resultados de esta investigación (Puentes, 2009, p. 26). Una importante propiedad de las saponinas es su actividad antifúngica. Se ha comprobado que las saponinas inhiben el crecimiento de *Candida albicans* causando grandes cambios en las membranas celulares y a la morfología de la pared celular (Puentes, 2009, p. 26).

Las saponinas al actuar en la membrana celular pueden solubilizar o desestabilizar con su resto lipófilo que se ancla en la bicapa lipófila, mientras que la parte hidrófila (azúcar) permanece en el exterior e interactúa con otras glicoproteínas o glicolípidos para formar poros transitorios o permanentes que provoca fugas de nutrientes esenciales, iones y metabolitos. Esto puede llevar a la disrupción de los procesos celulares vitales, la inhibición del crecimiento y, en última instancia, la muerte del hongo (Galindo et al., 2021, p. 39).

Tanto los triterpenos y flavonoides inhiben la síntesis de ergosterol: El ergosterol es un componente esencial de las membranas celulares de los hongos, incluyendo *Candida albicans*. Algunos triterpenos y flavonoides pueden interferir con la síntesis de ergosterol, lo que puede debilitar la membrana celular y afectar la viabilidad del hongo (Galindo et al., 2021, p. 39).

La actividad antifúngica de los metabolitos secundarios puede darse a diferentes niveles, desde alterar la estructura hasta actuar sobre pared, membrana celular y citoplasma hasta la intervención en la función de enzimas, proteínas transmembranales transportadoras de iones y producción de especies reactivas de oxígeno (Trillo 2021, p. 46).

11.1. Evaluación de la actividad antimicótica del extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L.

Para determinar el efecto antimicótico en concentraciones de 25%, 75% y 100% sobre cepas de *C. albicans* mediante un estudio in vitro, los datos obtenidos en el proceso experimental fueron

codificados y se transfirieron al programa Minitab (ANOVA), se consideró un nivel de significancia del 95% y un error del 5% considerando una asimetría en la distribución de los datos.

11.1.1. Datos obtenidos

El objetivo de este estudio fue analizar la actividad antimicótica que podría producir el extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. sobre cepas de *Candida albicans*, se midió los halos de inhibición en milímetros, Tabla 5-4.

Tabla 5-4: Datos de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de paico

Actividad inhibitoria del extracto etanólico de la hoja de paico. (mm)			
Repetición	25%	75%	100%
1	10,8	15,9	22,3
2	12,0	16,7	21,7
3	12,1	16,3	21,7
4	10,9	17,1	22,1
5	10,9	16,6	21,9

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

Concentración del inóculo. $1 \times 10^7 \text{ UFC} / \text{ml}$

La actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. mediante la técnica de agar de difusión (Kirby-Bauer) se evaluó la inhibición del crecimiento fúngico para la cepa de *C. albicans*, cuya turbidez del inóculo fue ajustada a una escala de 0,5 McFarland (1×10^7 UFC/ml).

Se realizó cinco repeticiones de cada concentración de 25%, 75% y 100%, posteriormente se midió en milímetros las zonas de inhibición producido sobre el hongo. Las medidas de las tres concentraciones de esta investigación se relacionan, se puede mencionar que a mayor concentración, mayor será la medida del halo de inhibición (Tabla 5-4).

11.1.2. Datos descriptivos

Los datos descriptivos hacen referencia a la media, a la desviación estándar y a los intervalos de confianza que presentan las concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L.

Tabla 6-4: Datos descriptivos del efecto antimicótico de extracto etanólico de las hojas de paico

Efecto antimicótico del extracto etanólico de las hojas de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	N°	Media	95% de intervalo de confianza para la media		Desv. Desviación	Mínimo	Máximo
			Límite inferior	Límite superior			
Concentración de 25% (1/25)	5	11,34	10,53	12,15	0,65	10,8	12,1
Concentración de 75% (1/75)	5	16,52	15,96	17,08	0,45	15,9	17,1
Concentración de 100% (1/1)	5	21,94	21,62	22,26	0,26	21,7	22,3

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

En la tabla 6-4, se evidencia que la media del efecto antimicótico del extracto etanólico de hojas de paico a una concentración de 25 % alcanzó a una media de 11,34 mm; a una concentración de 75% alcanzó 16.52 mm; y al 100 % es el rango más grande con una media de 21.94 mm, por lo que se puede asumir que presentó el mejor halo de inhibición. Además, se observa que el efecto antimicótico crece, mientras se incrementa la concentración sobre *C. albicans*.

En un estudio se determinó la sensibilidad micótica en concentraciones de 50%, 20%, 10% de extracto etanólico por el método de dilución en discos en placas con agar Sabouraud, se observa halos de inhibición promedios fueron de 14.82 mm, 10.44 mm y 9.10 mm respectivamente, los cuales se relaciona con los datos obtenidos en este estudio (Yauri y Chambilla, 2018, p. 60).

Además, el extracto etanólico de paico, presentó mayor cantidad de metabolitos secundarios capaces de inhibir el crecimiento de *C. albicans*, sus porcentajes de efectividad de inhibición del crecimiento fueron a distintas concentraciones, donde se evidencia que, a mayor concentración, mayor efecto de inhibición, esto se debe a que el etanol tiende a arrastrar gran cantidad de compuestos polares como saponinas, taninos, flavonoides, esteroides/terpenos (Yáñez, 2014).

Tabla 7-4: Efecto antimicótico de extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L.

Medias del extracto etanólico de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	
Concentración	Medias (mm)
25%	11,34
75%	16,52
100%	21,94

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

Se determinó la sensibilidad de los halos de inhibición de las distintas concentraciones del extracto etanólico de la hoja de paico. A concentración de 100% con un halo de inhibición de 21,94 mm es sensible, seguido de la concentración de 75% con una media de 16,52 mm es intermedio y por último se encuentra la concentración de 25% con un promedio de 11,34 mm es resistente contra *Candida albicans*, Tabla7-4.

En un estudio se determinó la sensibilidad micótica en concentraciones de 50 % con un promedio de 14,82 mm, mientras que en la concentración de 20% un promedio de 10, 44 mm y la concentración de 10 % con un promedio de 9.10 mm respectivamente, estos valores coinciden con los resultados alcanzados en esta investigación (Yauri y Chambilla, 2018, p. 60).

Además, se determinó que en la concentración del 100% del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* presentó mayor porcentaje de inhibición del crecimiento para *Candida albicans*. Para la inhibición del crecimiento de *C. albicans* se determinó que el solvente más efectivo es el etanol que fue capaz de extraer metabolitos secundarios eficaces y que además contienen compuestos potencialmente citotóxicos, se evidencia que se utilizó el solvente eficaz en esta investigación (Yáñez, 2014, p. 92).

11.1.3. Datos estadísticos

Tabla 8-4: Varianza del efecto antimicótico del extracto etanólico de paico frente a *C. albicans*.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)					
MEDICIÓN					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	Valor F	Valor p
Entre grupos	280,948	2	140,474	608,113	0,016
Dentro de grupos	2,772	12	0,231		
Total	283,720	14			

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

Para aplicar la prueba estadística primero se procedió a calcular el análisis de varianza de los datos obtenidos. Para ello se planteó lo siguiente:

Hipótesis

H1: El extracto etanólico de hojas de paico, tienen actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.

H_0 : El extracto etanólico de hojas de paico, no tienen actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.

Si p significa $> \alpha$, se acepta H_0 .

Si p significa $\leq \alpha$, se rechaza H_0 y se acepta H_1 .

Nivel de significancia: $\alpha = 0,05$

Estadístico de prueba: valor $p = 0.016$

Región de rechazo: si el valor de probabilidad p es menor que el nivel de significancia α se rechaza la

Decisión: El análisis estadístico, en la prueba de ANOVA, en la Tabla 8-4 presentó un valor de probabilidad asociada $p = 0,016$. Debido a que el valor de la probabilidad asociada al estadístico p es menor que α (0,05) se acepta la hipótesis alternativa (H_1), el extracto etanólico de hojas de paico tienen actividad antimicótica sobre la cepa de *C. albicans* y se rechazó la hipótesis nula (H_0).

Además, se evidencia que las muestras de estudio, donde el extracto etanólico de hojas de paico a concentración de 25%, 75% y 100% sobre *C. albicans* tienen tendencia uniforme y se mueven dentro de los intervalos de confianza.

De acuerdo con los resultados reportados en un estudio, indicó que se rechazó la hipótesis nula que indica que el extracto de paico no tienen actividad antifúngica frente al microorganismo patógeno *Candida albicans*, por ende se acepta la hipótesis alternativa la cual señala que el extracto de paico, tienen actividad antifúngica frente al microorganismo patógeno *Candida albicans*, estos resultados se relacionan con los resultados presentes en este estudio experimental (Yáñez, 2014, p. 107).

En el estudio se comparó la sensibilidad de las diversas concentraciones de extracto etanólico de hojas secas de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico), etanol y clotrimazol al 1% sobre *Candida albicans* cepa ATCC 10231 se obtuvo como resultado la aceptación de la hipótesis alternativa, donde se menciona que extracto etanólico de hojas secas de paico, tienen actividad antifúngica frente a *C. albicans* (Yauri y Chambilla, 2018, p. 60).

11.2. Comparación del efecto antimicótico del extracto etanólico de hojas de paico frente a discos de sensibilidad de miconazol y fluconazol

11.2.1. Datos obtenidos

Además, se comparó las tres concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. con los discos de sensibilidad del fluconazol y miconazol sobre cepas de *Candida albicans*. Para ello se realizó un proceso experimental se recopiló los datos obtenidos anteriormente de las distintas concentraciones con los datos obtenidos al medir el halo de inhibición del fluconazol y miconazol. Como se observa en la siguiente Tabla 9-4.

Tabla 9-4: Datos obtenidos de las distintas concentraciones de estudio, fluconazol y miconazol.

Actividad inhibitoria del extracto etanólico de la hoja de paico. (mm)					
Repetición	25%	75%	100%	Fluconazol	Miconazol
1	10,8	15,9	22,3	8,0	25,9
2	12,0	16,7	21,7	8,2	26,4
3	12,1	16,3	21,7	8,3	27,0
4	10,9	17,1	22,1	8,3	26,6
5	10,9	16,6	21,9	7,8	26,8

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

Concentración del inóculo: 1×10^7 UFC/ ml.

11.2.2. Datos descriptivos

Los datos descriptivos hacen referencia a la media, la desviación estándar y los intervalos de confianza que presentan cada uno de las concentraciones del extracto etanólico de hojas de paico, miconazol y fluconazol.

Tabla 111-4: Datos descriptivos del efecto antimicótico del extracto etanólico de hojas de paico

Efecto antimicótico del extracto etanólico de las hojas de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	N°	Media (mm)	95% de intervalo de confianza para la media		Desv. Desviación	Mínimo	Máximo
			Límite inferior	Límite superior			
Concentración de 25%	5	11,34	10,53	12,15	0,65	10,8	12,1
Concentración de 75%	5	16,52	15,96	17,08	0,45	15,9	17,1
Concentración de 100%	5	21,94	21,62	22,26	0,26	21,7	22,3
Miconazol	5	26,54	26,02	27,06	0,42	25,9	27,0

Fluconazol	5	8,12	7,85	8,39	0,22	7,8	8,3
------------	---	------	------	------	------	-----	-----

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

Una vez probadas en las distintas concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L., también se probó en los controles: miconazol y fluconazol. En el disco de sensibilidad del miconazol se obtuvo un promedio mayor de halo de inhibición de 26,54 mm y el fluconazol dio un promedio menor de halo de inhibición de 8,12 mm. También, se observa las muestras de estudio, donde el extracto etanólico de hojas de paico a concentración de 25%, 75% y 100%, fluconazol y miconazol sobre *C. albicans* tienen tendencia uniforme y se mueven dentro de los intervalos de confianza, según la tabla 10-4.

Tabla 11-4: Comparación de concentraciones del extracto etanólico de paico con el Fluconazol

Concentraciones del extracto etanólico de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. VS Fluconazol sobre la cepa de <i>C. albicans</i> .	
Concentración	Media
25%	11,34
75%	16,52
100%	21,94
Fluconazol	8,12

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

En la Tabla 11-4, se comparó las medias de las distintas concentraciones de 25%, 75% y 100% del extracto de estudio con el disco de sensibilidad del fluconazol que resultó ser inferior a las tres concentraciones dadas. Asimismo, el fluconazol y la concentración de 25% resultaron ser resistentes, la concentración de 75% fue intermedio, mientras que la concentración de 100% resultó ser sensible contra *C. albicans*.

De acuerdo con una investigación se aplicó el método de difusión de discos, obteniendo como resultado que el fluconazol es resistente contra la *C. albicans* con un halo menor a 10 mm, es decir el fluconazol no está diseñado para matar o inhibir al patógeno, lo cual coincide con la investigación realizada (Carton, 2018, p. 200).

Según los datos del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), la cepa de *C. albicans* es sensible frente al fluconazol cuando se presenta un halo de inhibición ≥ 19 mm y es resistente cuando el halo de inhibición es ≤ 14 mm, de acuerdo con los resultados obtenidos, el halo de inhibición es de 8,12 mm, es decir que este hongo es resistente frente al disco de sensibilidad del fluconazol, es decir no se presentó ningún halo de inhibición, por lo tanto, el fluconazol no presentó ninguna acción fúngica (Picazo, 2018. p. 15).

Tabla 12-4: Comparación concentraciones del extracto etanólico de paico con el Miconazol.

Concentraciones del extracto etanólico de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. VS Miconazol sobre la cepa de <i>C. albicans</i>.	
Concentración	Media (mm)
25%	11,34
75%	16,52
100%	21,94
Miconazol	26,54

Realizado por: Supe, Jennifer, 2023.

En la Tabla 12-4, se comparó las medias de las concentraciones de 25%, 75% y 100% del extracto en estudio con el disco de sensibilidad del miconazol que resultó ser superior a las tres concentraciones dadas, con un halo de inhibición de 26,54 mm.

En función a la escala de sensibilidad propuesta, se valoró cada diámetro de inhibición obteniendo como resultado que el extracto etanólico de paico en concentración de 25% es resistente, en concentración 75% es intermedio y en concentración de 100% y el miconazol es sumamente sensible.

Según con los datos del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), *C. albicans* es sensible frente al miconazol cuando se presenta un halo de inhibición ≥ 20 mm y es resistente cuando el halo de inhibición es ≤ 11 mm, de acuerdo con los resultados obtenidos, el halo de inhibición es de 26,54 mm, es decir que este hongo es sensible frente al disco de sensibilidad del miconazol, es decir, presentó halo de inhibición, por tanto, el miconazol presentó acción fúngica (Picazo, 2018. p. 15).

En este estudio realizadas el disco de sensibilidad del miconazol es sensible contra la cepa de *Candida albicans* con un halo de inhibición de 26,54 mm, es decir, mata por completo al patógeno, con un halo de inhibición de 32,5 mm (CCM, 2015).

12. CONCLUSIONES

13.

- Los metabolitos secundarios detectados en el extracto etanólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. a través del tamizaje fitoquímico corresponde a la presencia de flavonoides (ensayo de Shinoda), saponinas (ensayo de espuma), triterpenos y/o esteroides (Lieberman-Bouchard) lo cual justifica las propiedades antimicóticas que registra esta especie. Y de acuerdo con los parámetros físicos y químicos se pudo establecer que la materia vegetal está en condiciones óptimas para su utilización, puesto que el porcentaje de rendimiento y el porcentaje de cenizas totales de esta especie se encuentra dentro de lo establecido por la normativa.
- El extracto etanólico de hojas de paico presentó actividad antimicótica en concentraciones de 25%, 75% y 100% frente a *C. albicans*, la mayor actividad antimicótica se encontró en concentración de 100 %, debido a que se formó un halo grande, que indica una alta sensibilidad, seguida de la concentración de 75%, en el cual se observó una sensibilidad intermedia y a la concentración de 25% la cepa de estudio mostró resistencia. En conclusión, la planta representa un gran potencial antimicótico, que hasta la actualidad no ha sido estudiada como es debido, por lo que se recomienda realizar estudios sobre la especie vegetal para descubrir sus posibles compuestos bioactivos que pueden ser capaces de combatir la *C. albicans*.
- Finalmente, se comparó la actividad antimicótica del extracto etanólico de paico a concentraciones de 25%, 75% y 100% frente a discos de sensibilidad miconazol y fluconazol, mediante el test de disco (Kirby Bauer). En el cual se determinó que el fluconazol no inhibe por completo el crecimiento de la *C. albicans*, mientras que el miconazol inhibe por completo al patógeno, al igual que la concentración del 100% del extracto etanólico de las hojas de paico.

14. RECOMENDACIONES

15.

- Una vez que la materia primaria se encuentre triturada, colocar alcohol al 96% y almacenar en frascos ámbar en la oscuridad para evitar que esta se evapore.
- Realizar las pruebas de tamizaje fitoquímico con las diferentes partes de la planta de *Chenopodium ambrosioides* L. ya sea, raíz, tallo, semillas, con la finalidad de comparar e identificar la parte con mayor contenido de metabolitos secundarios.
- Cuando se realice el tamizaje fitoquímico de la especie vegetal, se recomienda realizar de 2 a 3 repeticiones con la intención de obtener resultados precisos y reales.
- Ampliar las investigaciones sobre el efecto antimicótico de *Chenopodium ambrosioides* L. sobre *C. albicans* considerando otros métodos de extracción como: aceite esencial o extracto hidroalcohólico.

16.

17. GLOSARIO

18.

Antibiograma: Esta prueba determina que tan efectivo un agente antimicrobiano o antifúngico contra un microorganismo u hongo que ocasiona una infección y determina si el microorganismo ha desarrollado resistencia a ciertos antibióticos. Los resultados de esta prueba ayuda a elegir el medicamento o la combinación de medicamentos que será más eficaz para tratar la infección (Rodríguez et al., 2017, p. 3).

Cenizas totales: Determina la cantidad de sustancias inorgánicas presentes en las drogas vegetales, como, metales pesados, sales, arena etc., que pueden afectar la calidad de las drogas (Cabrera et al., 2012, p. 270).

Ergosterol: Es un componente lipídico de la membrana celular del hongo, sobre el cual actúa la mayoría de los fármacos antimicóticos, es capaz de modificar la fluidez y permeabilidad de la membrana (Venegas 2018, p. 6).

Fitoquímico: Permite detectar e identificar los principios activos responsables de las propiedades atribuidas a la droga vegetal (Torres y Martínez, 2009, p. 5).

Inhibición: Es la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculado con el germen. El antibiótico se aleja del disco según un gradiente de dilución, de modo que, a mayor distancia, menor concentración (Picazo 2012, p. 4).

19.

20. **McFarland:** Es una escala de turbidez, que se utiliza en Microbiología para estandarizar las concentraciones de una suspensión bacteriana o fúngica. Es una mezcla de ácido sulfúrico (H₂SO₄) y el cloruro de bario (BaCl₂) (Jarrin 2018, p. 36).

21.

Resistente: Indica que el tratamiento del proceso infeccioso con determinado antibiótico en especial, fallará y que la bacteria no será eliminada por dicha terapia (Vazquez 2022, p. 2).

Sensible: Existe una alta probabilidad de que la bacteria sea eliminada y que el paciente haya respondido adecuadamente a la terapia con el antibiótico (Vazquez 2022, p. 2).

22.

23. BIBLIOGRAFÍA

24.

AEP. *Fluconazol.* [en línea] 2020. Disponible en: <https://www.aeped.es/pediamecum/generatepdf/api?n=83393>

AEP. *Miconazol.* [en línea] 2021. Disponible en: <https://www.aeped.es/pediamecum/generatepdf/api?n=83759>

ALMEYDA, A. *Estudio de la acumulación de ácido betulínico y urechitol a durante el desarrollo de pentalinon andrieuxii y su relación con la metilación de ADN.* [en línea] 2017. Disponible en : https://cicy.repositorioinstitucional/jspui/Tesis_2017_Almeйда_Augosto.pdf

AMORES, E. *Saponinas de la quinua, obtención y aplicaciones* Autora: Universidad Central Del Ecuador Carrera de Química Farmacéutica Trabajo, [en línea] 2022. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/26757>

ANMAT. *Farmacopea.* [en línea] 2013. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_I/files/assetpage4.html

APAZA, R et al. *Efecto de saponinas de Chenopodium quinoa Willd contra el fitopatógeno Cercospora beticola Sacc.* *Rev. Protección Veg,* 2016, pp: 63–69.

ARYAL, S. *Candida albicans- An Overview.* [en línea] 2022. Disponible en: <https://microbenotes.com/candida-albicans/>

BERMÚDEZ, P., Muñoz, E., Ospina, N., Molina, M., Constanza, L., Celis, L., Alejandra, D., Aponte, M., Alexandra, J., Castillo, M., María, J., & Gladys Pinilla Bermúdez, D. (2018). Herramientas para el análisis de mecanismos de resistencia de Candida albicans. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología,* 38(3), julio-septiembre.

CABRERA, H et al. *Composición fitoquímica de partes aéreas frescas de Phania matricarioides.* *Revista Cubana de Plantas Medicinales,* [en línea] 2012. Disponible en: <http://scielo.sld.cuhttp://scielo.sld.cu>

CABRERA, Y. *Determinación de las propiedades físicas, composición química y evaluación de la actividad biológica del aceite esencial de Chenopodium ambrosioides(Paico)de la*

provincia de Loja. 2017.

CANELA, A. *Candida.* [en línea] 2017. Disponible en:<https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/bitstream/handle/i/4390/Candida.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

CARTON, J. *Actividad antifúngica de la combinación de fluconazol con otros fármacos: Un enfoque terapéutico alternativo de las candidiasis.* 2018.

CCM. *Control de calidad de Micología* [en línea] 2015. Disponible en:<https://www.seimc.org/contenidos/ccs/analisisderesultados/2003/mico103.pdf>

CHAMBI, D. y PACHECO, K. *Evaluación del efecto antimicrobiano in vitro del extracto y el aceite esencial de las hojas de Chenopodium Ambrosioides L. 'Paico' en cepas de Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Pseudomona aeruginosa y Cándida albicans.*” 2017.

CHICAIZA, M. *Efecto antimicrobiano del aceite esencial del coriandrum sativum (cilantro) al 25, 50 y 100% sobre cándida albicans. Estudio in vitro.* [en línea] 2019. Disponible en:<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/18100/1/T-UCE-0015-ODO-111.pdf>

DE LA TORRE, L. *Plantas utiles del Ecuador. Enciclopedia de La Splantas Útiles Del Ecuador,* [en línea] 2009. Disponible en:<https://www.puce.edu.ec/portal/wr-resource/blobs/1/PUB-QCA-PUCE-2008-Enciclopedia.pdf>

DUEÑAS, A., Castañeda, R., Martín, L., & Guerra, J. (2020). Estudio fitoquímico de la especie endémica cubana *Zanthoxylum pseudodumosum*, una planta con potencial actividad antifúngica. *Revista Cubana de Química*, 32(3), 406–419. <http://scielo.sld.cu/pdf/ind/v32n3/2224-5421-ind-32-03-406.pdf>

ESPINOZA, J. *Análisis de la actividad antimicrobiana del aceite esencial y extracto hidroalcohólico de orégano (Origanum vulgare L.) sobre Escherichia coli y Salmonella Sp. Ejercicios de Core en la incontinencia urinaria Del Adulto Mayor,* [en línea] 2019. Disponible en:<http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/677%0Ahttp://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/1381/1/UNACH-EC-AGR-2016-0002.pdf>

FÉLIX, J et al. *Identificación botânica e química de espécies vegetais de uso popular no Rio Grande do Norte, Brasil. Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 2012.

FON-FAY, M et al. *Actividad Antimicrobiana de aceites esenciales de Ocotea Quixos (Lam.) Kosterm, Bursera Graveolens (Kunth) Triana y Planch, Cymbopogon Citratus (DC) Stapf y Curcuma Longa (L.) sobre microorganismos contaminantes de alimentos. Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2017.

GALINDO, A et al. *The Paico (Chenopodium ambrosioides) as natural treatment for the control of parasites in production animals. Evista Siembra CBA*, 2017.

GALLEGOS, M. y GALLEJOS, D. *Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos – Ecuador. Anales de La Facultad de Medicina*, 2017.

GARCÍA-HERNÁNDEZ, D. G., Rivas-Morales, C., & Leos-Rivas, C. (2016). Actividad antifúngica. *Investigación En Plantas de Importancia Médica*, 101–128. <https://doi.org/10.3926/oms.314>

GUTIERREZ, C. *Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de paico (Chenopodium ambrosioides), khoa (Clinopodium bolivianum) y ruda (Ruta graveolens) frente a Moniliophthora spp aislada a partir de muestras de cacao con moniliasis, La paz-Bolivia, 20. Proyecto de Grado [en línea] 2018. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/18742>*

HERNANDÉZ, M. *Hierba paico.* [en línea] 2021. Disponible en: https://cdn.dimerc.cl/media/catalog/product/supplier_data_sheet/CL_Z181993_FT.pdf

IBARRA, M. y PAREDES, E. *Eficacia antibacteriana in vitro de marco (Ambrosia arborescens mill.) y paico (Chenopodium ambrosioides L.) en una formulación cosmética.* [en línea] 2013. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>

INFOAGRO. *Paico: características y uso de la planta - Infoagro.* [en línea] 2022. Disponible en: <https://infoagro.com.ar/paico-caracteristicas-y-uso-de-la-planta/>

INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO. *Candida albicans - Agentes biológicos - Hongo.* [en línea] 2021. Disponible en: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/candida-albicans>

JARRIN J. *Actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de hojas de Moringa oleifera al 25%, 50%, 75% y 100% sobre cepas de Candida albicans. Estudio in vitro.* 2018.

LÓPEZ, A et al. *Determination of the chromosome number of "PAICO" (Chenopodium ambrosioides) from three regions of Peru.* Manglar, 2020.

LÓPEZ, K et al. *Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en Candida.* *Rev Biomed,* [en línea] 2016. Disponible en: <https://aulavirtual.unap.edu.pe/2020i/course/view.php?id=1464>

MALDONADO, C et al. *La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19).* *Ecología En Bolivia,* [en línea] 2020. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1605-25282020000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es

NORIEGA, P et al. *Composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial proveniente de la hojas de Piper pubinervulum C. DC Piperaceae.* *La Granja,* 2020.

OCHOA, A et al. *Estudio fitoquímico de la especie vegetal y evaluación de su actividad biológica.* *Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales.* [en línea] 2020. Disponible en: [https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/996/1/TESIS 2018-05-22.pdf](https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/996/1/TESIS%202018-05-22.pdf)

OVIEDO, Y. y AIQUIPA, K. *Estudio Comparativo In Vitro de la Actividad Antibacteriana de los Extractos Secos Hidroalcohólicos Al 70 % de las Hojas de Psidium guajava (Sahuinto) y Chenopodium ambrosioides (Paico) frente a Bacterias que causan Infecciones de las Vías Respiratorias.* [en línea] 2011. Disponible en: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/1063>

PAREDES, D et al. *Usos de plantas medicinales en la comunidad san jacinto del cantón ventanas, los Ríos-Ecuador.* [en línea] 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262015000100006

PICAZO, J. *Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Human and Veterinary Medicine*, 2012.

PINONCELY, N. *Prevalencia de la resistencia a antifúngicos y de mutaciones en genes asociados en especies de Candida aisladas de pacientes ginecológicas*. 2010.

PUENTES, N. *Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. RET. Revista de Estudios Transdisciplinarios*, [en línea] 2020. Disponible en:<http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=179214945004>

QUILLAY, E. *Extractos orgánicos de Chenopodium ambrosioides (paico), Artemisia absinthium (ajeno), Ocimum basilicum (albahaca) y Peperomia inaequifolia (congona) como agentes antiamebianos. Photosynthetica*, [en línea] 2018. Disponible en:<http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-76887->

REYES, J. *Metabolitos secundarios de las plantas (angiospermas) y algunos usos interesantes. Publicación Semestral*, [en línea] 2020. Disponible en:<https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/prepa1/issue/archive>

RIVERO, O. *Estudio de la resistencia a los antifúngicos en hongos patógenos humanos*. 2019.

Rodríguez, C., Recalde, D., & Padilla, L. (2017). Análisis del uso de antibióticos en antibiogramas de urocultivos realizados por un laboratorio clínico de la región centro-occidental de Colombia. *Universidad y Salud*, 19(3), 378. <https://doi.org/10.22267/rus.171903.100>

TORRES, A. y MARTÍNEZ, I. *Estudio fitoquímico de plantas medicinales propias del estado de Querétaro. Gender & Behaviour*, 2009.

TRILLO, Y. *Actividad antimicótica del extracto etanólico de Senecio nutans "chachacoma"*. [en línea] 2021. Disponible en:
[https://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13028/3445/ACTIVIDAD DEL EXTRACTO ETANOLICO DE Senecio.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13028/3445/ACTIVIDAD_DEL_EXTRACTO_ETANOLICO_DE_Senecio.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

VALLEJO, M. *Actividad Antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la planta Cassia reticulata sobre Cándida Albicans. Estudio In vitro*. 2018.

VALVERDE, P. *Efectividad Antimicótica Del Aceite Esencial De Orégano De Las Provincias De Chimborazo Y Santa Elena Al 100 % De Concentración Sobre Candida Albicans.* Universidad Central Del Ecuador Facultad De Odontología. 2017.

VAZQUEZ, M. *Pruebas de sensibilidad o antibiogramas - Enfermedades infecciosas.* [en línea] 2022. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es-ec/professional/enfermedades-infecciosas/diagnostico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-desensibilidad-o-antibiogramas>

VENEGAS, M. *Construcción y estudio funcional de mutantes de la biosíntesis de ergosterol de la levadura carotenogénica Xanthophyllomyces dendrorhous.* [en línea] 2018. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/150556/Construcción-y-estudio-funcional-de-mutantes-de-la-biosíntesis-de-ergosterol.pdf?sequence=4&isAllowed=y>

YÁNEZ, G. *Investigación de la Actividad Antimicrobiana y Fitoquímica de Extractos de Plantas Medicinales frente a los Microorganismos Patógenos Escherichia coli y Candida albicans*” T. *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, 2014.

YAURI, G. y CHAMBILLA, E. *Actividad antimicótica del extracto etanólico de Chenopodium ambrosioides L. sobre Candida albicans cepa* [en línea] 2018. Disponible en: <http://repositorio.upads.edu.pe/bitstream/handle/UPADS/24/TESIS;jsessionid=4E4AC2868EE46B4B9A47A4240AC10472?sequence=1>



25. ANEXOS

26.

27. ANEXO A: RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS HOJAS DE PAICO

28.



29. ANEXO B: PREPARACIÓN DEL MATERIAL PRIMA PARA LA MACERACIÓN

30.



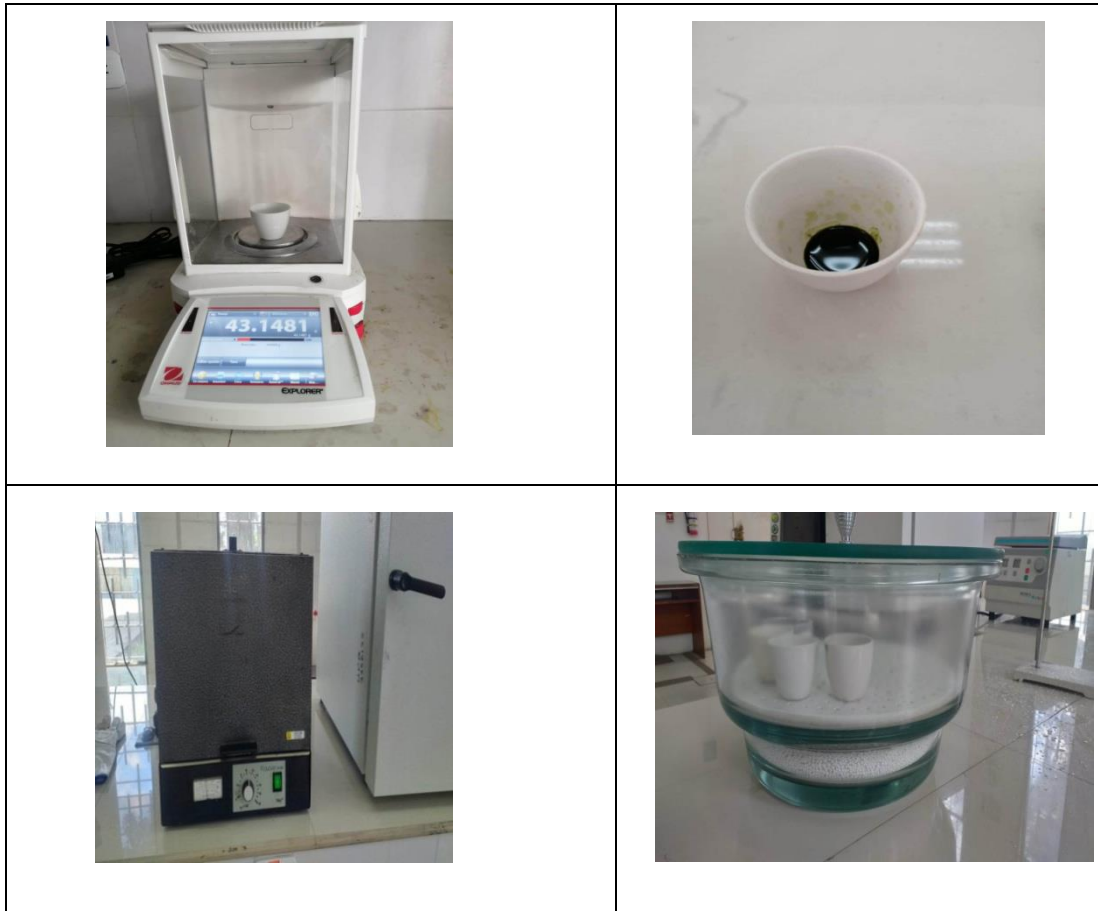
31. ANEXO C: OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE PAICO

32.



33. ANEXO D: RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA: CENIZAS TOTALES

34.



35. ANEXO E: TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE PAICO

36.



Se evaporó en baño maría, para proceder a realizar los ensayos.



Reactivos que se utilizó para el tamizaje fitoquímico.



Ensayo de Shinoda



Ensayo de Drangendorff



Ensayo de Mayer (alcaloides)



Ensayo de Wagner (alcaloides)



Ensayo de Espuma (Saponina)



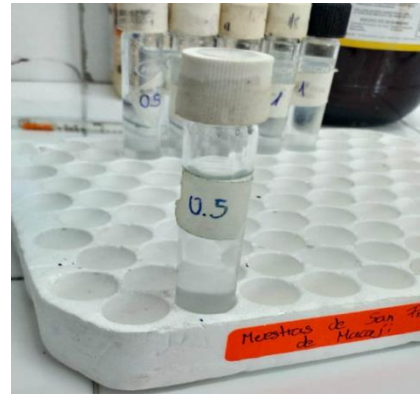
Ensayo de Liebermann- Burchard
(Triterpenos y/o esteroides)

37. ANEXO F: PREPARACIÓN DEL PATRÓN MCFARLAND

38.



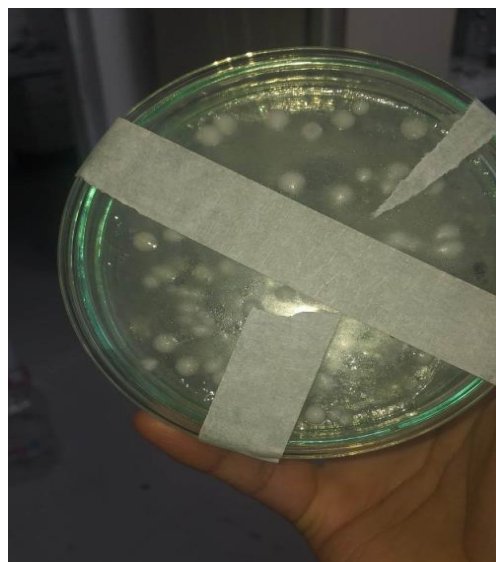
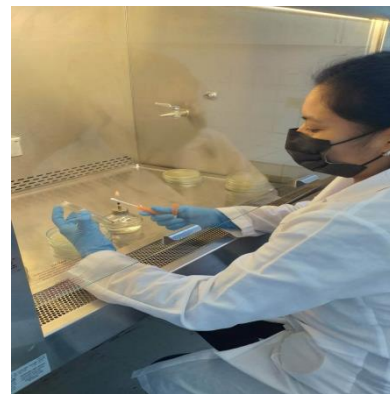
Ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 1% y el cloruro de bario (BaCl₂) al 1.175%.



Patrón de McFarland 0,5 que contiene aproximadamente 1×10^7 UFC.

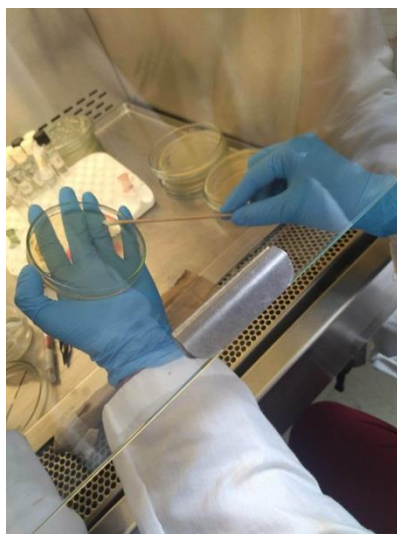
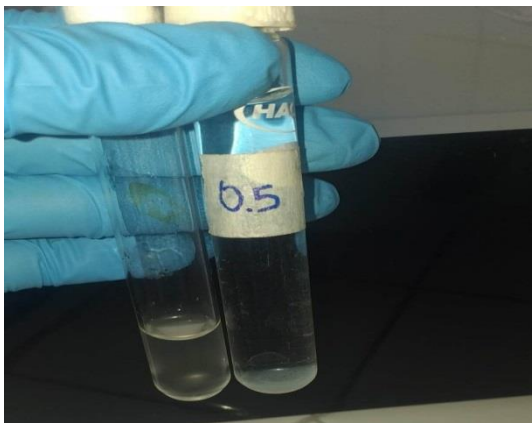
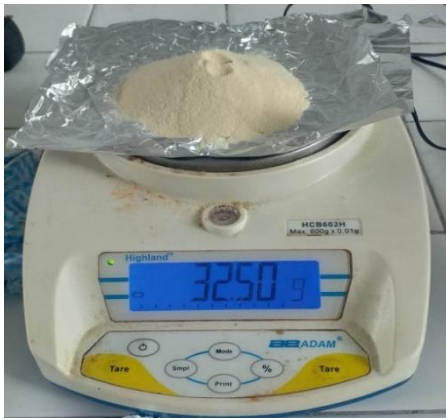
39. ANEXO G: ACTIVACIÓN DE LA CEPA DE *C. albicans*.

40.



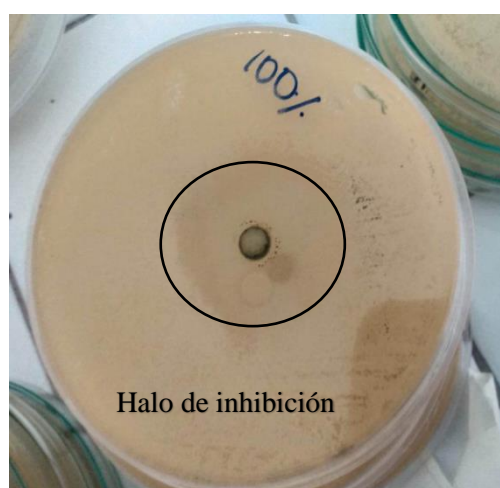
41. ANEXO H: PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO Y LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA

42.

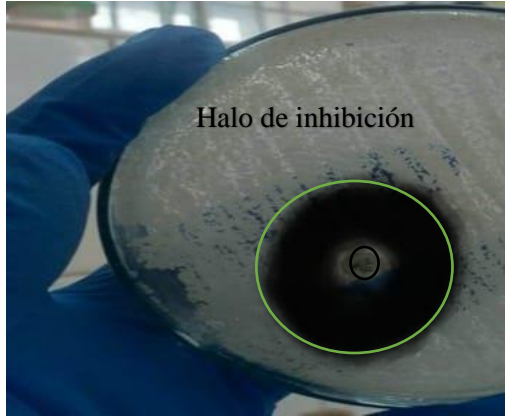




Efecto producido el extracto etanólico de hojas de paico a una concentración de 75% sobre la *C. albicans*



Efecto producido el extracto etanólico de hojas de paico a una concentración de 100% sobre la *C. albicans*



Efecto producido del miconazol sobre *C. albicans*



Efecto producido del fluconazol sobre *C. albicans*



Medición y comparación de los halos de inhibición.



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 18 / 07 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Jennifer Alexandra Supe Curay
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Bioquímica y Farmacia
Título a optar: Bioquímica Farmacéutica
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo

1350-DBRA-UPT-2023

