

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”



UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Realizado por:

HUGO GIOVANNY GARCÍA QUINGA

Director del Proyecto:

Dr. Lino Arisqueta Herranz, PhD.

Como requisito para la obtención del título de:

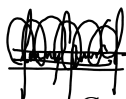
MÁSTER EN BIOMEDICINA

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, HUGO GIOVANNY GARCIA QUINGA, con cédula de identidad 1719706861, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado a calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.



Hugo Giovanni García Quinga

C.I. 1719706861

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE TRES EXTRACTOS DE PLANTAS NAVITAS DEL ECUADOR Y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Realizado por:

HUGO GIOVANNY GARCIA QUINGA

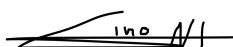
como Requisito para la Obtención del Título de:

MÁSTER EN BIOMEDICINA

ha sido dirigido por el profesor

LINO ARISQUETA HERRANZ

quien considera que constituye un trabajo original de su autor



PhD. Lino Arisqueta Herranz

DIRECTOR

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

LOS PROFESORES INFORMANTES

Después de revisar el trabajo presentado,
lo han calificado como apto para su defensa oral ante
el tribunal examinador



PhD. Juan Carlos Navarro

REVISOR



PhD. José Rubén Ramírez

REVISOR

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradezco a Dios por haberme otorgado unos padres ejemplares que siempre fueron mi motor que impulsa mis sueños, a mi familia, que siempre creyó en mi y en mis capacidades, a mi Tutor PhD. Lino Arisqueta Herranz, por la paciencia, constancia que entrego conmigo en este trabajo y que con sus aportes profesionales no lo hubiese logrado tan fácil. A todos muchas gracias por sus múltiples palabras de aliento, cuando más lo necesite

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

DEDICATORIA

Dedico este trabajo especialmente a mi madre que siempre estuvo junto a mí en los días y noches más difíciles, dándome palabras de aliento y fortaleza para continuar. Siempre siendo la mejor guía de vida. A mi hija que es mi motor, mi luz y mis ganas de superación, les dedico a ustedes este logro, como una meta mas conquistada, gracias por estar a mi lado y creer en mí.

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Resumen

El abuso y mala administración de antibióticos ha incrementado la resistencia a enfermedades infecciosas, convirtiéndose en uno de los problemas más importantes de la salud humana y la segunda causa de mortalidad a nivel mundial. En los últimos años ha aumentado el interés sobre las infecciones producidas por hongos. Entre éstos, los del género *Candida* son los que producen mayor número de micosis, estas varían desde lesiones superficiales en la piel o mucosas hasta una forma sistémica diseminada. *C. albicans* ataca principalmente a personas inmunosuprimidas o medicamente comprometidas, por esta razón, se evaluó la actividad antifúngica de cuatro plantas nativas: *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* *Banisteriopsis caapi* (β -carbólinas) contra el hongo patógeno *Cándida albicans* ATCC 10231, importantes por sus componentes químicos conocidos como antifúngicos, de esta manera se ha aprovechado el conocimiento tradicional acumulado y transmitido durante generaciones sobre el uso de estas plantas. Para ello se realizó el ensayo de difusión en disco para determinar la sensibilidad del hongo frente a cada extracto, adicionalmente se usó el ensayo de microdilución en caldo y ensayo MTT para determinar el porcentaje de viabilidad de *C. albicans*. Se pudo determinar la sensibilidad de *C. albicans* en los tres extractos de β -carbólinas de *Banisteriopsis caapi*, con resultados alentadores, mientras que en los extractos de *U. tomentosa*, *B. latifolia*, *C. jussieui* no hubo efecto significativo. En el ensayo de micro dilución en disco no se obtuvo datos estadísticamente significativos

Palabras claves: Extractos metanólicos, Micosis, viabilidad, difusión en disco, microdilución en caldo, ensayo MTT

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Abstract

The abuse and mismanagement of antibiotics has increased resistance to infectious diseases, becoming one of the most important human health problems and the second cause of mortality worldwide. In recent years, interest in fungal infections has increased. Among these, those of the *Candida* genus are the ones that produce a greater number of mycoses, these range from superficial lesions on the skin or mucosa to a generalized systemic form. *C. albicans* mainly attacks immunosuppressed or medically compromised people, so the antifungal activity of four native plants was evaluated: *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* *Banisteriopsis caapi* (β -carboline) against the pathogenic fungus *Candida albicans* ATCC 10231, important for its chemical components known as antifungals, in this way the traditional knowledge accumulated and transmitted for generations on the use of these plants has been taken advantage of. To do this, a disk diffusion assay was performed to determine the sensitivity of the fungus to each extract, additionally a broth microdilution assay and MTT assay were used to determine the percentage of viability of *C. albicans*. It was possible to determine the sensitivity of *C. albicans* in the three extracts of β -carboline from *Banisteriopsis caapi*, with encouraging results, although the extracts of *U. tomentosa*, *B. latifolia*, and *C. jussieui* did not have a significant effect. No statistically significant data were obtained in the disk microdilution assay.

Keywords: Methanolic extracts, Mycoses, viability, disk diffusion, broth microdilution, MTT assay

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

1. INTRODUCCIÓN:

En los últimos años ha aumentado el interés sobre las infecciones producidas por hongos. Entre éstos, los del género *Candida* son los que producen mayor número de micosis en la cavidad bucal humana, siendo *C. albicans* el principal agente infeccioso involucrado en las mismas (Pardi et al. 2002). Éstas varían desde lesiones superficiales en la piel o mucosas hasta una forma sistémica diseminada. *C. albicans* ataca principalmente a personas inmunosuprimidas o medicamente comprometidas. (Poulain D. 2015).

El abuso y mala administración de antibióticos ha incrementado la resistencia a enfermedades infecciosas, convirtiéndose en uno de los problemas más importantes de la salud humana y la segunda causa de mortalidad a nivel mundial (Robles A., 2019). Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el incremento de cepas multirresistentes en el mundo para el 2050 podría tener peligrosas consecuencias para la salud. La aparición de nuevas cepas resistentes a antibióticos en la actualidad se ha convertido en un reto para la comunidad científica, por lo tanto, se hace urgente el desarrollo de nuevas estrategias de identificación y control, así como también terapias de tratamiento (Enria et al. 2017). Con los años la candidiasis y otras enfermedades fúngicas se han incrementado y con ello el índice de mortalidad a nivel mundial, debido a que los medicamentos que se utilizan ya no producen la misma eficacia antimicótica. Por tal razón los médicos tratantes se han visto en la obligación de usar nuevos medicamentos con mayor toxicidad para el organismo y con precios mucho más altos que los comunes añadiendo gran complejidad al tratamiento de la infección fúngica (Grau et. al, 2009). Entre los agentes antimicóticos más utilizados contra las infecciones invasivas por hongos encontramos los siguientes: anfotericina B, cuyo mecanismo de acción radica en su

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

unión a los esteroides de la membrana citoplasmática de los hongos y provocando un cambio en la permeabilidad, lo que conduce a una disminución del contenido citoplasmático y muerte celular (Thompson L., 2002): la 5-fluorocitosina (5-FC) tiene un átomo de flúor el cual funciona inhibiendo la síntesis de ADN y ARN en las células fúngicas (Tapia C., 2005); en cuanto al fluconazol, voriconazol, posaconazol y ravuconazol, estos azoles son fármacos que inhiben la enzima 14α -esteroldemetilasa, que impide la unión del ergosterol cambiando la estructura y función de la pared celular fúngica (Nocua et. al., 2020). Además, existe el grupo de antifúngicos desarrollados recientemente conocidos como equinocandinas que inhiben la $1,3\text{-}\beta$ -glucanosintetasa, que es la enzima responsable de formar polímeros de glucano, los cuales son esenciales para la estructura de la pared fúngica. Entre estos, se incluyen a la anidulafungina, caspofungina y micafungina (Solorzano et. al, 2008).

Durante muchos años, se ha buscado un fármaco selectivo de células fúngicas que no afecte a las células humanas para reducir los efectos secundarios que éstos producen por su alta toxicidad. Náuseas, anomalías endocrinas (menstruaciones irregulares, ginecomastia) y pruebas de función hepática anormales se encuentran entre los efectos secundarios más comunes (Tapia C., 2005).

El aumento de infecciones fúngicas debido a los mecanismos de resistencia que han generado los hongos ha hecho que aumente el uso de estos fármacos. En ciertas poblaciones de *C. albicans* estos mecanismos se aceleran y surgen con mayor efectividad obligando a la comunidad científica a crear nuevos fármacos que pueden ser mucho más tóxicos para los humanos.

El coste económico es la diferencia más notable y objetiva entre los diferentes fármacos utilizados desde tiempo atrás ya que las cifras de coste del tratamiento/día

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

en enfermedades fúngicas invasoras genera un gran impacto en el presupuesto. Ante esta situación, inunda a la alta complejidad del paciente, la necesidad de un equipo multidisciplinario para evaluar y aplicar adecuadamente el tratamiento, así como la dificultad de realizar un diagnóstico certero (Barraza et al., 2018), es necesario implementar, alternativas naturales de tratamiento aprovechando la increíble diversidad de la fauna y flora ecuatorianas.

Los productos naturales de plantas ejercen sus efectos antifúngicos principalmente a través de mecanismos activos de membrana y gracias al avance de la ciencia y teniendo claro dicho mecanismo de acción, ya se describen moléculas y/o sustancias alternativas que podrían usarse como agentes de tratamiento contra las enfermedades fúngicas resistentes. (de Oliveira Santos et. al, 2018).

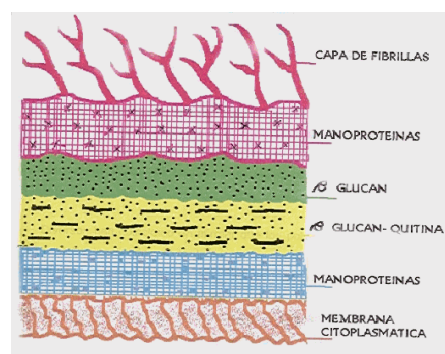
1.1. Candida albicans

La epidemiología de las infecciones por *C. albicans* ha aumentado con una frecuencia de 44% a 58% a nivel mundial (Lazo et. al 2018). Las candidemias o infecciones provocadas por *Candida* son consideradas mayoritariamente de origen endógeno, al ser esta especie un componente de la microbiota humana ya sea oral, digestiva o vaginal (Quindos, 2002). Por tal razón esta especie coloniza asintóticamente muchas partes del cuerpo, especialmente el tracto gastrointestinal y genitourinario de individuos sanos. A nivel molecular, diversos mecanismos de resistencia a los azoles y otros han sido descritos en *C. albicans*, como por ejemplo mutaciones puntuales en la región 405-488 del gen que codifica para la enzima desestabilizadora de los antifúngicos (Fuentes et al. 2014).

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Los microorganismos que pertenecen al género *Candida* son considerados como comensales oportunistas y generalmente las encontramos en la cavidad bucal, intestino, vagina, secreción bronquial, piel del ser humano y de ciertos animales.

El género *Candida* comprende más de 150 especies, donde solo una docena aproximadamente tienen capacidad de adaptarse a temperaturas de 37°C, como por ejemplo *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* (*pseudotropicalis*), *C. krusei*, *C. guilliermondi*, *C. parakrusei*, *C. zeylanoides*, *C. stellatoidea* y *C. brumptii*, entre otras, tornándose patógenas para el ser humano (Pardi et al. 2002). *C. albicans* es el microorganismo involucrado en la candidiasis. Cuando el sistema de defensa del hospedero se daña, ésta puede manifestarse de manera superficial o de una forma invasiva más seria. Se puede encontrar en condiciones facultativamente patógenas, ya sea desde un saprofito simple, hasta un patógeno perjudicial. Suele presentarse frente al microscopio como una célula levaduriforme oval con paredes finas de aproximadamente 2 a 4 micras. Sin embargo, en tejidos infectados se han podido visualizar formas filamentosas de longitud variable, con sus extremos redondos de aproximadamente 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, siendo estas células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí. Su pared celular está principalmente compuesta por cinco capas las cuales son: Manoproteínas, β -Glucán-Quitina, β -Glucán, Manoproteínas y una capa de fibrillas (figura 1) (Pardi et al. 2002).



“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Figura 1. Diagrama esquemático de la pared celular de *C. Albicans* (Pardi et al. 2002).

Las especies de *Candida* crecen muy bien en medios de cultivo que contengan agar, peptona, dextrosa, maltosa o sacarosa. *In vitro* crecen en condiciones de aerobiosis en medios de cultivo con un pH entre 2,5 y 7,5 y una temperatura que oscile entre 20°C y 38°C. El crecimiento puede observarse entre 48 y 72 horas después de la siembra, aunque debemos conocer que los subcultivos comúnmente pueden crecer más rápidamente. Adicional existen otros medios de cultivo para *C. albicans* como: Pagano-Levin, donde las colonias se observan de color crema, CHROMagar® Candida (CHROMagar), donde las colonias se observan color verde y Albicans ID (Biomerieux), donde las colonias se observan de color azul (Pardi et al. 2002).

En la **Tabla 1** se muestra la cepa de *Candida Albicans* ATCC 10231, que fue utilizada en el presente estudio y sus características.

CANDIDA ALBICANS DRUG RESISTANCE PANEL

ATCC *Candida albicans* Drug Resistance (CaDR) Panel (ATCC® MP-8™) represents strains resistant to one or more antifungal drugs. It also includes two sensitive strains that have been typed and sequenced to serve as controls. Strain difference in genetic background is denoted by variance in the yeast DNA barcoding region. This unique set of *Candida albicans* strains is useful for assay development, novel drug testing, and other applications.

ATCC® No.	Strain Designation	D1D2 Variance**	Isolation Source	Geographical Region	Anidulafungin	Micafungin	Caspofungin	5-flucytosine	Voriconazole	Itraconazole	Fluconazole
64124™	Darlington	T455C	Human mouth swab	Unknown	R	R	R	I	R	R	R
10231™	3147	T455C, 601A	Human bronchomycolosis	Unknown	R	S	S	S	R	R	R
76485™	--	T455C	Human infant cerebrospinal fluid	Dallas, Texas (USA)	R	S	R	S	S	S	S
28121™	304	C263T,	Human	California	S	S	S	S	R	R	R

Tabla 1: Datos generados por ATCC a través de pruebas de resistencia a diferentes antimicóticos (www.attc.org)

1.2. *Uncaria tomentosa*

Uncaria tomentosa es originaria del continente americano, más conocida como uña de gato, es una planta perteneciente a la familia Rubiaceae. Recientemente, se ha

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

dado a conocer como una planta curativa con antecedentes etnomedicinales, estas actividades están directamente relacionadas con metabolitos secundarios como alcaloides, oxindoles, triterpenos, compuestos fenólicos, esteroides vegetales, compuestos fenólicos, glucósidos, taninos y flavonoides, tiene baja toxicidad y exhibe actividades antibacterianas, antiinflamatorias, antioxidantes, antitumorales e inmunomoduladores (Caldas et. al 2021). Ha sido utilizada por al menos 2000 años por muchas nacionalidades Amazónicas, considerada una planta medicinal con muchas aplicaciones terapéuticas. Su extracto es rico en protoantocianidinas y flavanolignanos que tienen efectos benéficos para la salud especialmente en relación a las enfermedades cardiovasculares y diabetes (Flores et. Al. 2018). La 3a-dihidrocadambina y sus derivados relacionados tienen actividades hipotensoras, antioxidantes y propiedades antifúngicas (Correa et. al 2019).

Por otro lado, las actividades inmunomoduladoras antioxidantes, antimicóticas y antiinflamatorias se relacionan con polifenoles de bajo peso molecular solubles en agua presentes en la uña de gato (Cougo et. al 2016).

1.3. Baccharis Latifolia

Baccharis latifolia, comúnmente conocida como "Chilca", pertenece a la familia Asteraceae, una de las familias más numerosas de angiospermas (Enríquez et. al 2018). Reconocida etnobotánicamente por poseer actividad antiinflamatoria, antineurítica, antitumoral y anti disentérica, también conocida para tratar enfermedades del hígado, como analgésico en la infusión de sus ramas (Loja et. al 2017). Parte de su actividad se debe a su contenido de flavonoides, cuya composición cuantitativa en la planta varía según las condiciones ambientales (Enríquez et. al 2018). Los extractos etanólicos de sus hojas contienen abundantes compuestos

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

fenólicos, asimismo, se observó alta presencia de alcaloides en el extracto acidulado (Loja et. al 2017).

1.4. Chuquiraga jussieui

La Chuquiragua (*Chuquiragua jussieui*), pertenece a la familia Asteraceae, es conocida como la planta de los páramos andinos del Ecuador, tiene grandes cualidades terapéuticas por tal razón es muy consumida por sus efectos diuréticos. Según la tradición popular, las hojas y tallos macerados en etanol, se emplean para tratar reumas, fiebre e inflamación. La resina se emplea en cataplasmas en heridas y para el alivio de dolores producidos por luxaciones y fracturas (Barrera C. 2015).

Por sus propiedades diuréticas la infusión de sus hojas, flores y tallos se utiliza para el tratamiento de problemas renales y hepáticos. Las hojas de *Chuquiragua jussieui* presentan una fuente importante de compuestos bioactivos, como polifenoles, carotenos y vitamina C, también interviene en la protección de las membranas de los glóbulos rojos contra la oxidación de lípidos (Guerrero et. al 2019).

1.5. Banisteriopsis caapi

Es una liana gigante nativa de la amazonia, pertenece a la familia Malpighiaceae (López et. al, 2020). En las selvas de Sudamérica, al brebaje que se prepara a partir de esta planta se la conoce como yagé, ayahuasca o hoasca, y ha sido utilizada por siglos por las tribus de la amazonia como un alucinógeno terapéutico (Djamshidian et. al, 2015). *Banisteriopsis caapi* contiene β-carbolinas, principalmente harmina, harmalina y tetrahydroharmina, que son utilizados como inhibidores de las monoaminooxidasas (MAO) (López et. al, 2020). También se han descrito los

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

posibles efectos antibacterianos, antifúngicos, antiprotozoarios, antioxidantes, antitumorales, antimutagénicos y citotóxicos (Cao et al., 2007).

HIPOTESIS

Los extractos vegetales de *U. tomentosa*, *B. latifolia*, *C. jussieui* y *B. caapi* poseen actividad antifúngica contra *C. albicans* en dosis terapéuticas.

OBJETIVOS

Evaluar la actividad antifúngica del extracto de *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-carbolinas) contra *Candida albicans*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener y caracterizar extractos de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiragua jussieui* mediante maceración en metanol y subfracciones por extracción líquido – líquido con actividad antifúngica
- Determinar la sensibilidad de *C. albicans* a los extractos mencionados más varios extractos de *B. caapi*, mediante el ensayo de difusión en disco, microdilución en caldo y MTT

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Reactivos y Equipos

Todos los reactivos, materiales y equipos, fueron proporcionados por la UISEK (Tablas 2 y 3).

Tabla 3. Reactivos.

Nombre	Fórmula	Casa Comercial
Metanol	CH ₄ O	J.T. Baker
Ácido sulfúrico 1%	H ₂ SO ₄	PHARMCO
Cloruro de Bario 1%	BaCl ₂	Casa de los Químicos
Acido Clorhídrico	HCl	
SDS	C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	
MTT	bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difeníl tetrazolio	
Azul de tripán	Azul de tripán	

Tabla 4. Equipos.

NOMBRE	MODELO	MARCA
CÁMARA DE FLUJO LAMINAR	RCH-1200	REBELK
LECTOR ELISA	Mulatizan Sky	ThermoScientific
INCUBADORA	PCD-C6(5)000	PEAKS
AUTOCLAVE	25X-1	All American
BOMBA DE VACÍO	R-300	BOECO
CENTRÍFUGA	XC-2450	Premiere

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

BALANZA ANALÍTICA	BAS31PLUS	Boeco
REFRIGERADORA	2015KLXB	Durex
ROTAVAPOR	RE100-Pro	DLAB

El material vegetal se secó y se molió bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y oscuridad, a excepción del extracto de *Banisteriopsis caapi* (β -carbolinas) que fue proporcionado por la UISEK.

2.2.MÉTODOS

2.2.1. Recolección del material vegetal

Para la obtención de los extractos se recolectaron aproximadamente 500gr de cada planta de *Uncaria tomentosa* recolectadas en la ciudad del Puyo, *Bacharis latifolia* recolectadas en la ciudad de Quito y *Chuquiragua jussieui* recolectadas en la ciudad de Cuenca.

2.2.2. Obtención de extractos

Todos los extractos se obtuvieron mediante el procedimiento descrito a continuación. Sin embargo, los extractos de *B. caapi*. fueron proporcionados por la FACIS – UISEK.

2.2.2.1.Proceso de secado y molienda

Se seleccionaron únicamente las hojas más limpias y sin ninguna contaminación externa de *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui*, se secaron a temperatura ambiente en un lugar oscuro y seco durante 5 días, posteriormente las hojas completamente secas se molieron en una licuadora industrial hasta alcanzar una granulometría fina (\approx 3 mm) y obtener 100gr de cada

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

planta, se almaceno en bolsas de plástico selladas en ambiente oscuro y seco hasta su utilización.

2.2.2.2.Maceración

El material vegetal pulverizado, se macero en metanol en una relación 1:4, (p/V) durante un periodo de 72 horas a 4°C en una botella de cristal ámbar para asegurar las condiciones de oscuridad, posteriormente se realizó el proceso de filtrado utilizando papel filtro (Anexo 1).

2.2.2.3.Concentración

Después de la filtración el material obtenido, se concentró en un rotavapor RE100-Pro, en las siguientes condiciones: 100 rpm., a 60° C y a una presión de 54KPa. Después de cierto tiempo se logró obtener el extracto seco de cada planta, en la base del balón del rotavapor y posteriormente fueron colocados en una estufa para eliminar toda la humedad que pudo haber quedado como residuo. Una vez obtenido el extracto seco, se colocó nuevamente metanol 32,6ml, 22,6ml y 80ml para chilca, chuquiragua y ña de gato respectivamente, que fueron almacenados en tubos falcón estériles a -4°C hasta su utilización (Anexo 2).

Estos extractos fueron considerados como extracto crudo e inmediatamente se tomaron 10 ml de dichos extractos en tubos falcón para realizar las respectivas diluciones y luego los posteriores ensayos de viabilidad.

2.2.2.4. Acidificación

Para el proceso de acidificación se utilizó HCL al 2% en una proporción 1:3 (v/v) (extracto: HCl). Se colocó cada extracto en una probeta de 1L y se añadió por las paredes el HCl muy lentamente, evitando genere algún tipo de reacción,

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

posteriormente se dejó precipitar por 24 horas a 4°C. para luego centrifugar en tubos falcon estériles a 3500 rpm por 5 min. y filtrar el extracto con papel filtro.

2.2.2.5. Basificación

Una vez realizado el proceso de acidificación se trató a los extractos con una solución saturada de KOH hasta lograr un pH=10, que luego se centrifugo y se filtró.

2.2.2.6. Extracción líquido – líquido

Después del proceso de Basificación los extractos se mezclaron con cloroformo en una relación 2:1 (v/v) (extracto: cloroformo) en un embudo de decantación de 1L, y se agitó enérgicamente durante 1min. para lograr una mezcla total entre el extracto y el disolvente, posteriormente se dejó decantar por 10 min. De tal forma que se pudieron evidenciar claramente dos fases: una superior acuosa (metanólica) y otra inferior (clorofórmica). Cuidadosamente en un vaso de precipitación se retiró la fase inferior y se midió su volumen (Chilca $V_f=80$ ml; Uña de gato $V_f=60$ y Chuquiragua $V_f=130$ ml). (Anexo 3).

2.2.2.8 Lavado del extracto

Para la eliminación contaminantes acuosos de la fase clorofórmica se utilizó KCl al 0,88% en proporción 1:2 (v/v) (KCl: extracto). Cada extracto se colocó en un embudo de decantación totalmente seco, se agitó enérgicamente durante 1min aproximadamente, se dejó reposar por 15 min más, y posteriormente se recogió la fase orgánica totalmente limpia (transparente) en un vaso de precipitación filtrando con un embudo que tenía papel filtro con 1gr de Na_2SO_4 , para un lavado más efectivo del extracto.

2.2.2.9. Concentración y resuspensión

Una vez realizado un lavado efectivo nuevamente se colocó a cada extracto en el rotavapor a 100 rpm y 60°C hasta el secado completo. El extracto totalmente seco

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

quedara en la base del balón que fue resuspendido con 10ml de metanol y luego almacenado en refrigeración a 4°C hasta su posterior utilización. De tal forma que se nombraron a los extractos E1: *Baccharis latifolia* (Chilca), E2: *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) y E3 *Chuquiraga jussieui* (Chuquiragua).

2.3. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICOTICO DE LOS EXTRACTOS

2.3.1. Cultivos de microorganismos:

Tabla 5. Medios de Cultivo.

Medio de Cultivo	Composición por litro
Sabouraud Dextrose Agar	5 g/l de digestión péptica de tejido animal, 5 g/l de digestión pancreática de caseína, 40 g/l de dextrosa, 15g/l de agar

La cepa fúngica *Candida albicans* ATCC® 10231 fue comprada al importador y distribuidor MEDIBAC INC S.A. R. sanitario N-AD-541-04-13.

Para el mantenimiento de la cepa, la levadura fue sembrada en agar SDA (Sabouraud Dextrose Agar). Fueron cultivadas bajo condiciones controladas de temperatura (37° C) por 24h. Se formaron colonias de color blancuzco cremoso y liso, lo que concuerda con lo establecido por (Pardi et al. 2002). Las colonias crecen muy pequeñas, de 1,5 a 2 mm, en un lapso aproximado de 24 a 36 horas, son blancas, aunque varían de color crema a requemado según su envejecimiento celular. En el Agar Sabouraud o en medios de cultivo similares, las colonias crecen de forma lisa, suaves, húmedas, de aspecto cremoso y un color blancuzco y rápidamente proyectan filamentos hasta la profundidad del agar, cabe mencionar que después de 4 o 5 días ya se percibe el olor característico de la levadura. (**Figura 2A**). Al microscopio la levadura presenta un aspecto de células redondas u ovaladas, de 3-8 x 2-7 micras de tamaño (**Figuras 2B**).

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

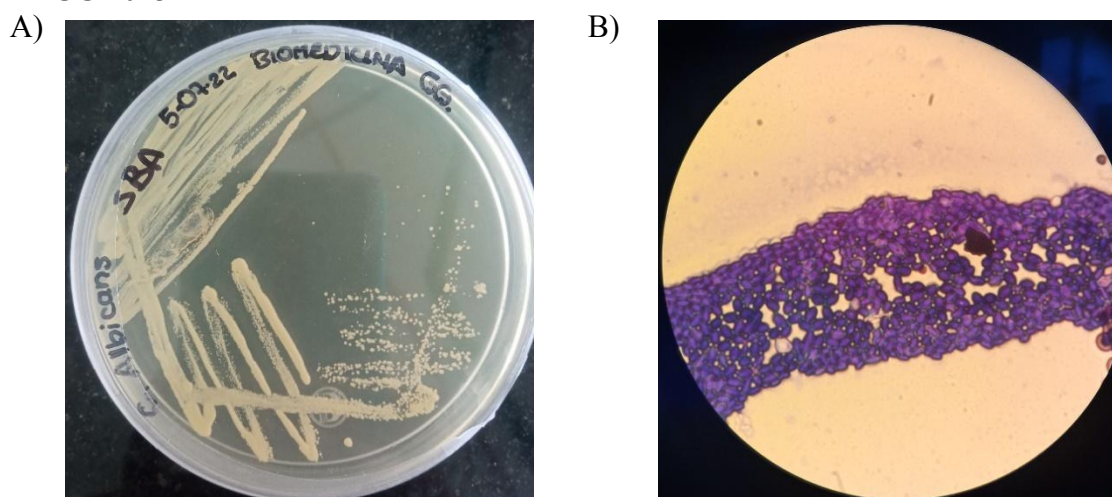


Figura 2. Cultivos en placa de levadura utilizada en el estudio. A) Colonias de *C. albicans* en medio agar SDA (24hrs de incubación) B) *C. albicans* vista al microscopio 40x

2.3.2. Análisis del efecto de los extractos vegetales de *U. tomentosa*, *B. latifolia*, *C. jussieui* y *B. caapi*

La evaluación del efecto antifúngico de los extractos de *U. tomentosa*, *B. Latifolia* y *C. jussieui*, y *B. caapi* se realizó mediante ensayo de microdilución en caldo y determinación de Abs 600 nm según la metodología descrita por Stephen et al. (2005) y mediante ensayo MTT, descrito por Cañete E. (2012). Para los sobrenadantes y extractos totales de *U. tomentosa*, *B. latifolia* y *C. jussieui*, también se empleó el método de difusión en disco debido al color, que interfería tanto con la determinación de Abs 600 nm como con la longitud de onda del MTT.

Para la obtención de bacterias en condiciones óptimas para realizar el conteo de células en cámara de Neubauer, se cultivó una colonia de *C. albicans* en caldo Muller Hilton y se incubó por 24 horas, transcurrido el tiempo se siguió el protocolo descrito por (UASLP, 2013) y se realizaron los cálculos respectivos para obtener $39,75 \times 10^6$ células en 194 uL de medio Muller Hilton.

En una placa estéril de 96 pocillos de fondo plano se cultivaron $39,75 \times 10^6$ bacterias por pocillo de *C. Albicans*, en un volumen de 194 uL de medio *Muller Hilton*. Los

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

extractos de *U. tomentosa*, *B. Latifolia*, *C. jussieui* y *B. caapi*, en concentraciones crecientes, se añadieron a los pocillos, disueltos en metanol, en un volumen de 6 µl. Así cada pocillo contenía un volumen final de 200 µL con 3% de metanol. Cada punto de concentración fue evaluado por triplicado. En la **tabla 6** se describe la composición total por pocillo.

	INOCULO FINAL (ML) CON 39.75 x 10 ⁶ CÉLULAS	METANOL (ML)	EXTRACTO EN METANOL (ML)
CONTROL NEGATIVO, C-	194	6	-
MUESTRA	194	-	6

Tabla 6. Volúmenes en cada pocillo en la placa de 96 pocillos. Cada pocillo contiene 39,75 x 10⁶ células viables de *C. Albicans*

En las **Figura 3** y **4**, se muestra el diseño de las placas empleados en estos ensayos. No se empleó control positivo (C+), puesto que la cepa de *C. Albicans* ATCC 10231 es resistente a los antibióticos comerciales. Se incluyeron los controles negativos cultivados solo en caldo Muller Hilton con metanol al 3% sin ninguna concentración de los extractos de evaluación (C-).

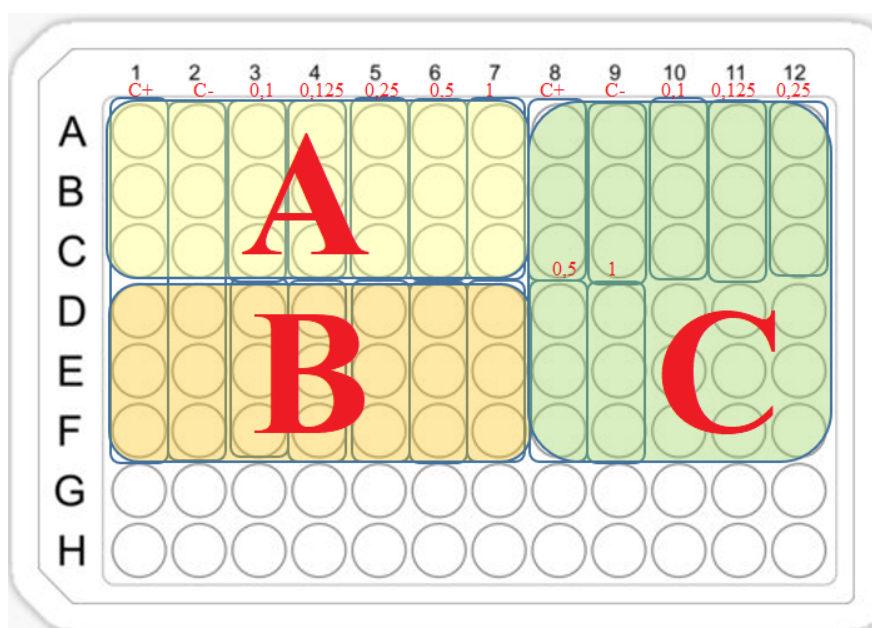


Figura 3. Diseño de la placa de 96 pocillos en el ensayo de micro dilución en caldo de los extractos de *U. tomentosa*, *B. Latifolia* y *C. jussieui* a diferentes concentraciones frente al cultivo de *C. Albicans* CC-: control negativo con 2% de metanol; A) Extracto 1 (X/10 – X): concentraciones

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

crecientes del extracto de *B. Latifolia*; B) Extracto 2 (X/10 – X): concentraciones crecientes del extracto de *U. tomentosa*; C) Extracto 3 (X/10 – X): concentraciones crecientes del extracto de *C. jussieui*.

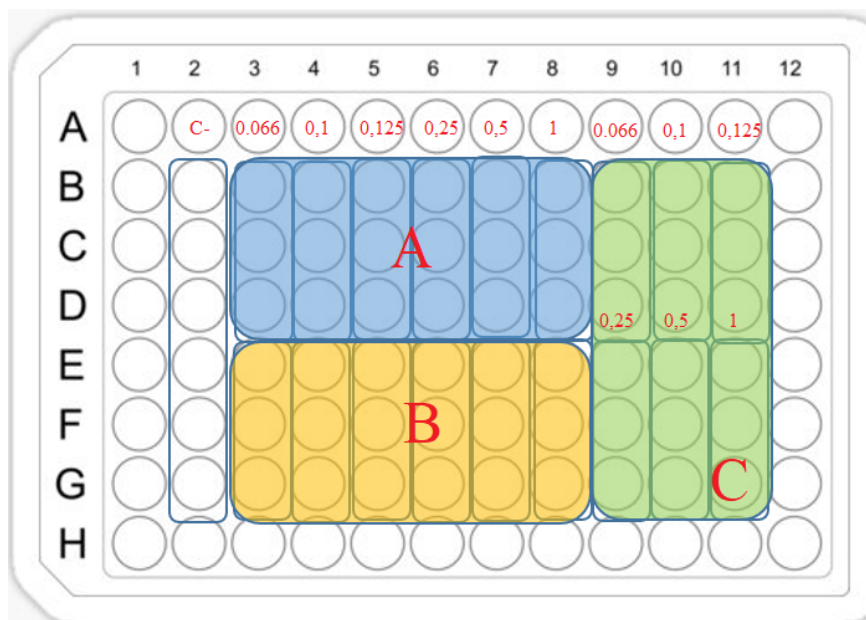


Figura 4. Diseño de la placa de 96 pocillos en el ensayo de conteo de cámara de Neubauer a diferentes concentraciones frente al cultivo de *C. Albicans* C-: control negativo con 2% de metanol; A) Extracto 3 (X/15 – X): concentraciones crecientes del extracto de *B. caapi*; B) Extracto 8 (X/15 – X): concentraciones crecientes del extracto de *B. caapi*; C) Extracto 9 (X/15 – X): concentraciones crecientes del extracto de *B. caapi*.

Tras 24 horas de incubación a 37°C, la lectura se realizó en un espectrofotómetro de placas Multiskan Thermo Fisher a 600 nm. Tras la lectura a 600 nm, se procedió al ensayo MTT.

Se añadieron 10 μ L de una disolución 5 mg/mL de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difenil tetrazolio) y la placa se incubó durante cuatro horas a 37°C. Los cristales de formazan se disolvieron en 100 μ L de una solución de 0.1M de ácido clorhídrico y 10% (w/v) de dodecilsulfato sódico (SDS). Posteriormente la lectura se realizó en un espectrofotómetro de placas Multiskan Thermo Fisher a 570 nm y 630 nm. Por tanto, los valores promedio de las densidades ópticas de los controles negativos representaran el 100% de crecimiento bacteriano y este dato se

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

tomó como referente para determinar los porcentajes de viabilidad para cada concentración de los extractos analizados.

2.3.3. Ensayo de Difusión en disco en extracto crudo y sobrenadante (acuoso – metanólico)

Para la obtención de bacterias en condiciones óptimas para realizar el ensayo de microdilución en caldo, *C. albicans* se cultivó en agar SDA por 24 horas a 37°C.

2.3.3.1. Preparación de los discos de papel

Se utilizó papel Whatman N°1 para la elaboración artesanal de los discos con la ayuda de una perforadora de papel. Los discos obtenidos se autoclavarón, se secaron, se irradiaron por 10 min con luz UV para su esterilización. Tras este paso se les añadió 10 uL de los extractos en concentraciones crecientes y se dejaron secar (Rodero et. al, 2006).

2.3.3.2. Cultivo en cajas Petri

A partir de un cultivo de *C. Albicans* de 24 hrs a 37°C en agar SDA, se preparó un inóculo de turbidez de 0,5 McFarland en solución 0,1 cloruro de sodio estéril (solución salina 0,85%). Para este ensayo se utilizaron placas Petri con SDA, se hisopó la superficie de cada placa de Petri en tres direcciones con el inóculo correspondiente y se dejó secar de 10 a 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se colocaron los discos de cada extracto y concentración en evaluación por triplicado y se incubaron por 24hrs a 37°C. Después del tiempo transcurrido se midió con una regla el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento en mm (Rodero et. al, 2006).

2.4. Análisis Estadístico

A partir de los datos obtenidos de las placas, se calculó la media \pm la desviación estándar. Para el análisis del efecto de cada extracto se realizó ANOVA de una vía

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

seguida de post test de Dunnet en que se comparó cada punto de concentración con el control negativo. Los efectos (diferencias entre medias) se consideraron estadísticamente significativos cuando el valor de P fue menor a 0.05.

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

3. RESULTADOS

3.1. Efecto de los extractos clorofórmicos de *U. tomentosa*, *B. latifolia*, *C. jussieui* y *B. caapi* sobre el crecimiento y la inhibición de *C. albicans*

La actividad antimicótica de los extractos clorofórmicos se evaluó mediante dos métodos distintos. Mediante micro dilución en caldo y determinación de Abs 600 nm y mediante ensayo MTT.

En la Figura 7 se muestran los resultados de Abs 600 nm y los porcentajes de inhibición obtenidos a partir de los mismos, tras 24h de incubación de *C. albicans* con los extractos de *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui*.

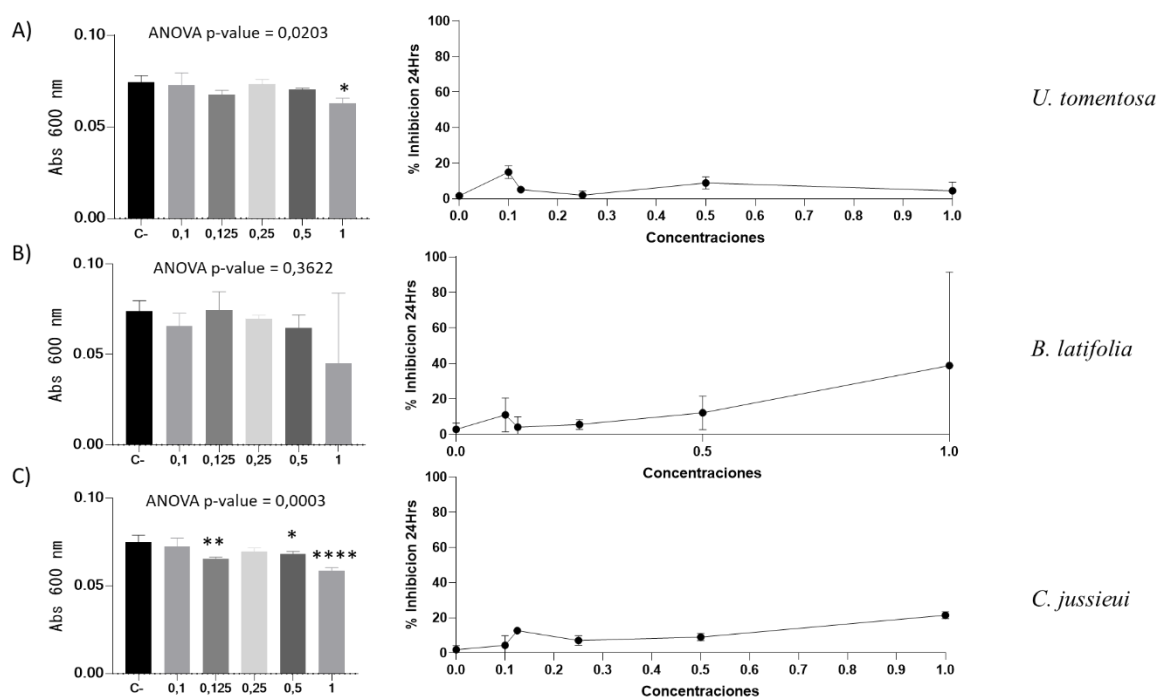


Figura 7. Absorbancias a 24 horas de incubación y Porcentaje de inhibición para *C. albicans* A) *Baccharis latifolia* (chilca) B) *Uncaria tomentosa* (*Uña de gato*) C) *Chuquiraga jussieui*. C-: Control negativo (Inoculo + Metanol). Dunnet's post-test (Control negativo vs tratamiento) (* = p-value < 0,05; ** = p-value < 0,01; * = p-value < 0,001; **** = p-value < 0,0001).**

Como puede observarse, tanto *U. tomentosa* como *C. jussieui* tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre el crecimiento de *C. albicans* ($P < 0.05$), no así *B. latifolia*. La eficacia, sin embargo, no fue muy elevada porque los valores de inhibición apenas alcanzaron el 20%.

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

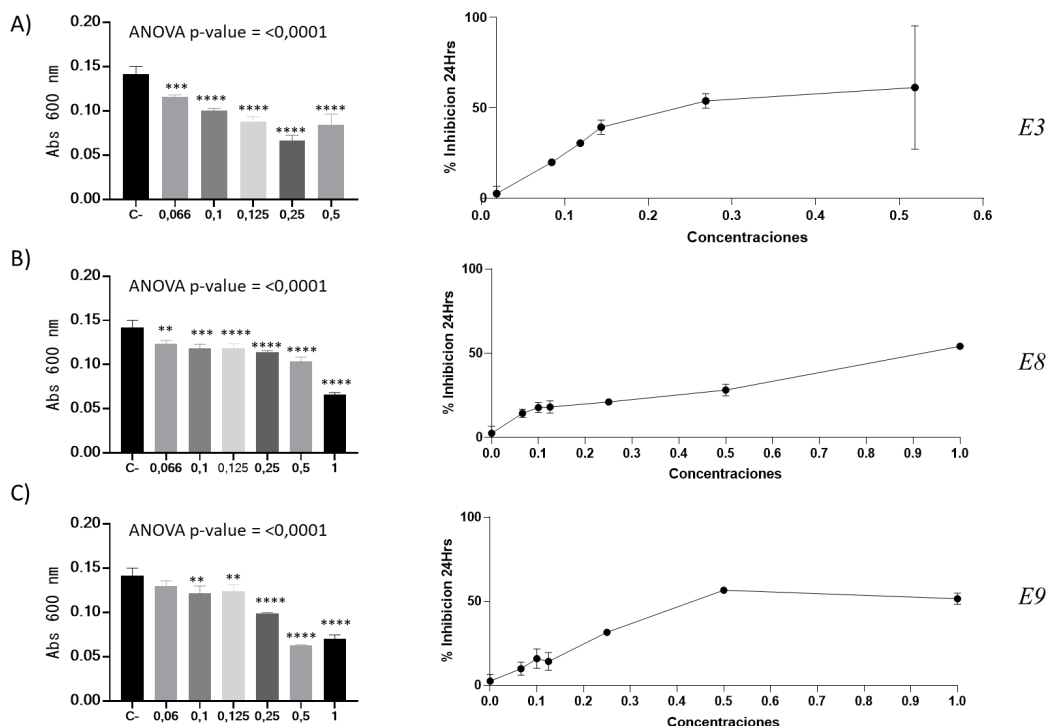


Figura 8. Absorbancias a 24 horas de incubación y Porcentaje de inhibición para *C. albicans* con el extractos de *Banisteriopsis caapi* (β -Carbolinas) A) Extracto 3 B) Extracto 8 C) Extracto 9. C-: Control negativo (Inoculo + Metanol). Dunnet’s post-test (Control negativo vs tratamiento) (* = p-value < 0,05; ** = p-value < 0,01; * = p-value < 0,001; **** = p-value < 0,0001).**

En la figura 8 se muestra el efecto de tres extractos de *B. caapi* sobre el crecimiento de *C. albicans*. En este caso, los tres extractos tuvieron efectos significativos y se alcanzaron porcentajes de casi 60%.

En cuanto al efecto sobre la viabilidad de *C. albicans* de los extractos de *U. tomentosa*, *B. latifolia*, *C. jussieui*, la figura 9 muestra los valores del ensayo MTT y los porcentajes de inhibición obtenidos a partir de ellos. Como puede observarse, solo el extracto de *B. latifolia* tuvo un efecto significativo sobre la viabilidad de *C. albicans*, alcanzando porcentajes de inhibición cercanos al 60%. El extracto de *C. jussieui* estuvo cerca de provocar un efecto significativo ($P = 0.051$), con porcentajes de inhibición también superiores al 50%.

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

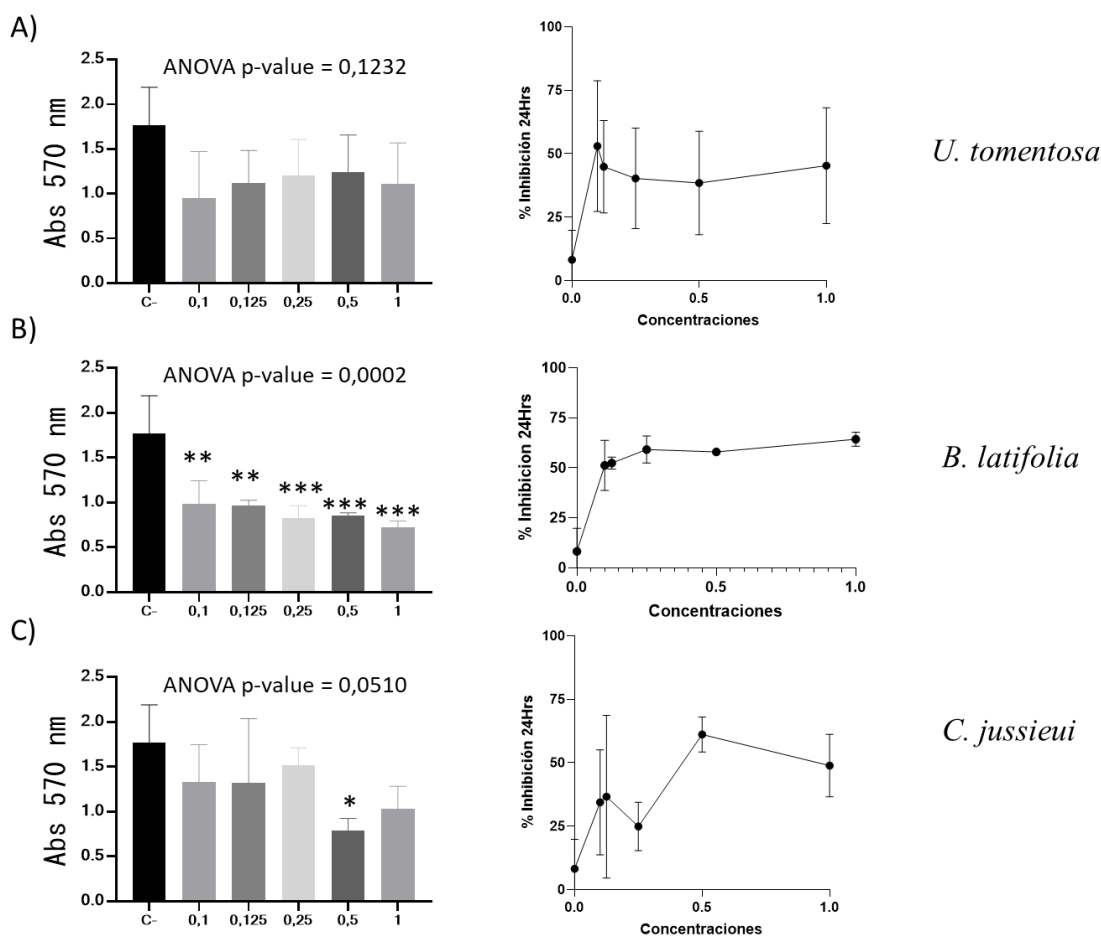


Figura 9. Efecto de los tres extractos en estudio sobre la viabilidad de *C. albicans* Tras 24 horas de cultivo y ensayo de MTT. En la especie de *C. albicans* el ANOVA p-value < 0.0001. Comparaciones entre grupos: A) *Baccharis latifolia* (chilca) B) *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) C) *Chuquiraga jussieui*. C-: Control negativo (Inoculo + Metanol). Dunnet's post-test (Control negativo vs tratamiento) (* = p-value < 0,05; ** = p-value < 0,01; *** = p-value < 0,001; **** = p-value < 0,0001).

Por último, en la figura 10 se muestra el efecto sobre la viabilidad de *C. albicans* de los tres extractos analizados de *B. caapi*. En este caso, todos los extractos tuvieron efectos extremadamente significativos sobre la viabilidad de la levadura. Estos extractos fueron muy eficaces reduciendo la viabilidad de *C. albicans* ya que se obtuvieron porcentajes de inhibición cercanos al 100%.

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

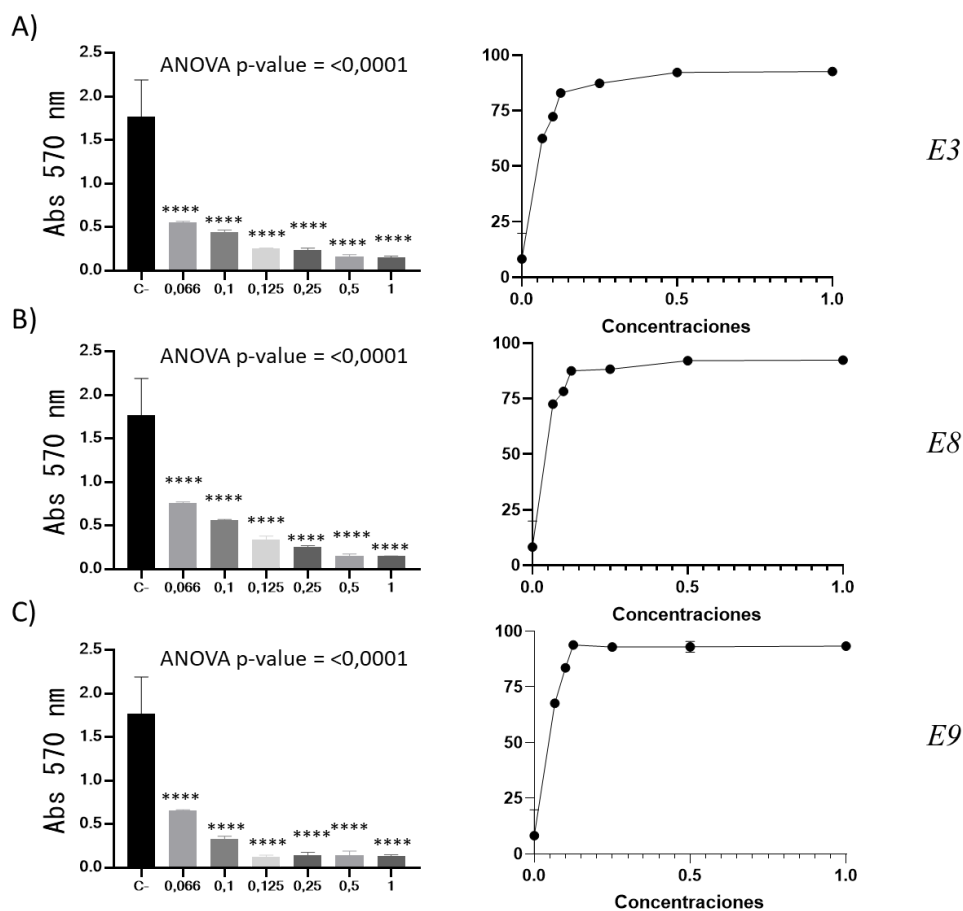


Figura 10. Efecto del extracto de *B. caapi* sobre la viabilidad de *C. albicans*. Tras 24 horas de cultivo y ensayo de MTT. En la especie el ANOVA p -value < 0.0001. Comparaciones entre grupos: A) E3 B) E8 C)E9 **** = p -value < 0.0001

3.1. Efecto de los extractos crudos y acuoso – metanólicos de *U. tomentosa*, *B. latifolia*, *C. jussieui* sobre el crecimiento de *C. albicans*.

Para la evaluación de los extractos crudos y acuoso - metanólicos no pudieron emplearse métodos espectrofotométricos ni colorimétricos debido al color verde intenso de los mismos que interfería tanto con la Abs 600 nm, propia de la turbidez asociada a crecimiento microbiano, como con la Abs 570 nm, propia del ensayo de MTT. Por ello, se recurrió al ensayo de difusión en disco en el que se mide el halo de inhibición del crecimiento provocado por los extractos. En la **figura 11** se observan los resultados obtenidos tras 24h de incubación con los extractos en distintas

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

diluciones. Como puede observarse, no se produjo ningún halo significativo, implicando que estos extractos no inhiben el crecimiento de *C. albicans*.

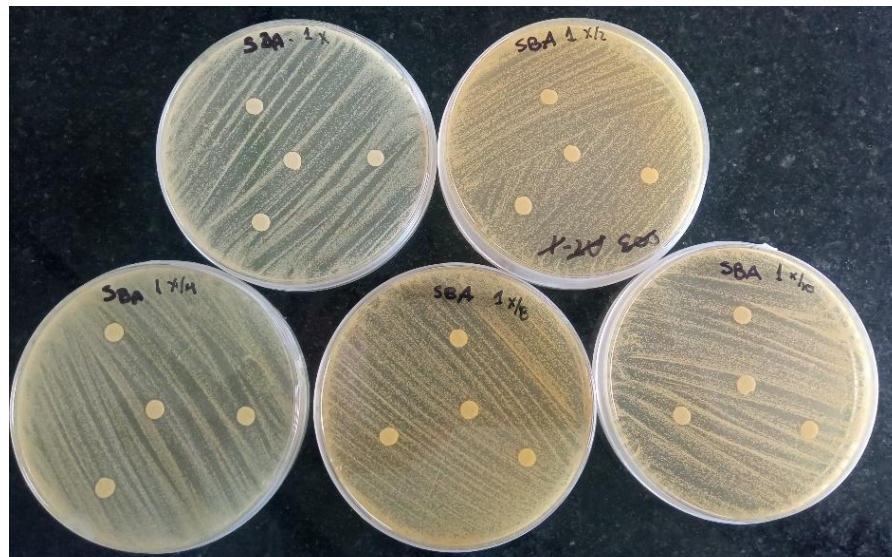


Figura 11: Ensayo de difusión en disco de extracto crudo y sobrenadante (acuoso – metanólico), probado en cultivo de 24hrs. de *C. Albicans* a diferentes concentraciones.

4. DISCUSIÓN:

Dado que actualmente hay pocos fármacos derivados de antimicóticos naturales que realmente sean 100% eficaces y totalmente disponibles para el tratamiento de micosis invasivas, y dado que la eficacia de los fármacos sintéticos existentes es bastante limitada, es importante encontrar nuevas fuentes de agentes antimicóticos (Casado et al.,2011).

Debido a la resistencia antimicrobiana, hoy en día ha aumentado la administración de medicamentos antifúngicos con efectos secundarios más fuertes y de alta toxicidad para el ser humano, puesto que la medicación existente no solo destruye a los patógenos causantes de estas enfermedades, sino que también dañan las células humanas, aumentando la mortalidad a nivel mundial. Es por esto que los científicos se han visto en la necesidad de buscar opciones basadas en compuestos vegetales con actividad antifúngica (Hsu et. al, 2020).

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

En el presente trabajo los extractos de *B. latifolia* tuvieron un efecto muy débil contra el crecimiento de *C. albicans*. Esto podría correlacionarse con lo encontrado en una investigación realizada por Zapata et al. 2010 en Colombia, donde los aceites esenciales de *B. latifolia* fue inactivos contra algunas especies del género *Candida* y *Aspergillus*. Según Valarezo et al. 2013 en Ecuador, *B. latifolia* se ha utilizado en la medicina tradicional para tratar el dolor de estómago, problemas hepáticos, renales, fracturas, gangrena, reumatismo y como agente antiinflamatorio, pero cabe recalcar que aún no ha sido estudiada en profundidad en relación a sus efectos bactericidas, antifúngicos e incluso su citotoxicidad.

U. tomentosa es una planta amazónica que posee baja toxicidad, contiene alcaloides, esteroides, flavonoides, triterpenos comunes, entre otros compuestos que brindan las propiedades antiinflamatorias, inmunoestimulantes, antibacterianas y antifúngicas esenciales en el tratamiento de *C. albicans* (Cadena et al., 2017). En el presente trabajo los extractos de *U. tomentosa* tuvieron un efecto significativo a concentraciones muy elevadas en *C. albicans*, pero a baja concentración los resultados fueron intrascendentes. Lo que se corrobora con los resultados encontrados en las investigaciones de Souza-Junior et al., 2011 donde el extracto hidroalcohólico de *Uncaria tomentosa* L. mostró actividad antifúngica a altas concentraciones del extracto. En la investigación de Ccahuana – Vásquez et al., 2007, se evaluó el efecto antimicrobiano del extracto de *U. tomentosa* al 2% frente a cepas de *C. albicans*, donde difiere de nuestros resultados para dicho microorganismo.

Las pruebas realizadas con *C. latifolia* frente a *C. albicans*, no muestran resultados significativos bajo ninguna concentración de prueba. Según Casado et al. 2011 en una investigación donde se evaluaron varios extractos vegetales entre ellos

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Chuquiragua spinosa, del mismo género que *C. latifolia*, se obtuvo una actividad inhibitoria mínima casi inexistente, resultando el extracto acuoso menos activo contra los hongos patógenos probados en dicho estudio. Es importante aclarar que son necesarios más estudios para determinar el mecanismo de acción e identificar los compuestos bioactivos de estas especies vegetales Casado et al. (2010). La utilidad medicinal que ofrece la *Chuquiragua jussieui*, incluye infecciones producidas por hongos y bacterias Gram-positivas, justificándose en este caso el uso prudente y responsable (Moncayo L., 2022).

Se ha demostrado que las β-carbolinas tienen la capacidad de unirse al ADN, lo que altera la precisión de replicación y los procesos de reparación (Nenaah G., 2010), por tal razón, puede ser una alternativa potencial para el tratamiento de las enfermedades generadas por *C. albicans*, evidenciando en la presente investigación que el extracto de *B. caapi* provoca una inhibición notable en el crecimiento y viabilidad de dichas levaduras. Incluso según Santana et al., 2019 se ha demostrado que las β-carbolinas presentan importantes propiedades antifúngicas: la harmalina inhibe significativamente la lipasa de *Candida* según estudios *in silico* (docking), siendo un inhibidor competitivo; la harman y la harmina tiene propiedades antifúngicas significativas, por ende son poderosos inhibidores de *Candida albicans*, (Li et al., 2022). Estos y otros ejemplos prueban el potencial de los β-carbolinas de origen natural o sintético como agentes antifúngicos para estudios medicinales y de otro tipo.

Según Kalemba D. & Kunicka A. (2003) el método de difusión en disco es un método confiable y preciso, aunque puede dar resultados semicuantitativos o solo cualitativos. No obstante, permite estimar un grado aproximado de inhibición del crecimiento de los microorganismos (halo o zona de inhibición) y los cambios que

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

sucedan en su morfología de forma sencilla, que generalmente se expresa como el diámetro de esta zona (en mm o cm). En la evaluación de difusión en disco de *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui*. frente al cultivo de *C. albicans* no encontramos halo de inhibición que demuestre la eficacia de los extractos vegetales.

En una investigación realizada por Herrera et al., 2010 donde evaluaron el gel obtenido a partir de un extracto liofilizado de *U. tomentosa* encontramos halos de inhibición significativos para *C. albicans*. Según los autores de esta investigación una posible razón de esta diferencia es que los compuestos activos de *U. tomentosa* pueden haber sido más estables, en comparación con el extracto micropulverizado utilizado por Ccahuana-Vasquez et al. al igual que en nuestra investigación, las variaciones en el material vegetal y los procedimientos de extracción pueden afectar las concentraciones de compuestos activos, lo que podría reflejarse en la actividad antimicrobiana.

Aunque la industria farmacéutica ha producido varios antibióticos nuevos, la resistencia de los microorganismos a estos fármacos ha aumentado, incluso algunos antibióticos están casi obsoletos debido a la resistencia a los medicamentos. Durante años, la OMS ha recomendado las medicinas tradicionales como tratamientos seguros para enfermedades microbianas y no microbianas (Nenaah G., 2010). Por tal razón los productos naturales derivados de plantas pueden ofrecer estos tratamientos potenciales para la creación de nuevos agentes que actúen eficazmente contra las enfermedades causadas por hongos Casado et al. (2011).

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

5. CONCLUSIONES

Los extractos de *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui*, demuestran una actividad antimicótica muy baja frente a cultivos *in vitro* de *C. albicans*. No así los extractos de *Banisteriopsis caapi* (E3 – E8 – E9) que ofrecieron resultados positivos y potentes.

6. RECOMENDACIONES

Analizar cuantitativamente y cualitativamente los extracto de las cuatro plantas evaluadas. Los extractos de *B. caapi* contienen harmina y probablemente tetrahydroharmina, pero no se conocen el resto de componentes ni su concentración.

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

7. BIOGRAFIA:

ATCC Credible leads to Incredible (2022). University Boulevard Manassas, Virginia.

Obtenido de la web:
<file:///C:/Users/usuario/Downloads/Candida%20Albicans%20Drug%20Resistance%20Panel.pdf>

Barrera C. (2015). *Evaluación De La Actividad Diurética Del Extracto De Chuquiragua (Chuquiraga Jussieui) En Ratas (Rattus Norvegicus)*. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo Facultad De Ciencias Escuela De Bioquímica Y Farmacia. Obtenido de la web:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4627/1/56T00603%20UDCTFC.pdf>

Barraza M, Barnafi N., Ortiz G., Torres J., Coria P., Catalán P., Palma J. & Morales J. (2018). *Evaluación de la indicación, consumo y costos de antifúngicos en un hospital pediátrico de Chile*. Rev. chil. infectol. vol.35 no.4 Santiago.
<http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182018000400351>

Cadena K., Pazán P. & Farfán A. (2017). *Antifungal effect of different hydroalcoholic concentrations of UncariaTomentosa against Candida Albicans: In vitro study*. Revista “ODONTOLOGÍA” Vol. 19, N° 2, Julio – Diciembre 2017; pp. 30-39.
<https://doi.org/10.29166/odontología.vol19.n2.30-39>

Caldas N., Prado M., Carvalho N., Sena P., & Nogueira E. (2021). *Cytotoxicity, and antimicrobial and physicochemical properties of sealers incorporated with Uncaria tomentosa*. Braz. Oral Res. 2021;35:e086. Obtenido de la web:
<https://www.scielo.br/j/bor/a/3yL48pCNN9pcYnZz9vk44gM/?lang=en>

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Cañete E. (2012). *Optimización de ensayos celulares para la detección de toxinas*

marinas responsables de intoxicaciones alimentarias. Aplicación en extractos

*lipofílicos de muestras naturales de *Mytilus galloprovincialis*. Universidad de*

Barcelona. <https://www.tesisenred.net/handle/10803/83569?locale-attribute=es>

Cao, R., Peng, W., Wang, Z., & Xu, A. (2007). B-Carboline Alkaloids: Biochemical and Pharmacological Functions. *Current Medicinal Chemistry*, 14(4), 479–500.

<https://doi.org/10.2174/092986707779940998>

Casado R., Landa A., Calvo J., García-Mina J. M., Marston A., Hostettmann K., &

Calvo M. I. (2011). *Anti-inflammatory, antioxidant and antifungal activity of*

Chuquiraga spinosa. *Pharmaceutical Biology*, 49(6), 620–626.

<https://doi.org/10.3109/13880209.2011.577436>

Ccahuana-Vasquez R., Santos S., Koga-Ito C. & Olavo J. (2007). *Antimicrobial*

*activity of *Uncaria Tomentosa* against oral human pathogens*. *Braz Oral Res*.

2007; 21(1): 46-50. <https://doi.org/10.1590/S1806-83242007000100008>

Correa L., Sepúlveda E., Ponce T., Trejo J., Jiménez A., Luna G., Trejo G. & Ramos

A. (2019). *Glucoindole alkaloid accumulation induced by yeast extract in*

Uncaria tomentosa root cultures is involved in defense response. Mexico City,

Mexico. Obtenido de la web: <https://doi.org/10.1007/s10529-019-02714-1>

Cougo R., Ramos A., Dalla A., Kaisera S., Pippib B., Meneghello A., & Gonzales G.

(2016). *In vitro synergism of a water insoluble fraction of *Uncaria tomentosa**

*combined with fluconazole and terbinafine against resistant non-*Candida**

albicans isolates. *PHARMACEUTICAL BIOLOGY*, VOL. 55, NO. 1, 406–415.

Obtenido de la web: <http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2016.1242631>

Djamshidian, A., Bernschneider S., Poewe W. & Lees A. (2015). *Banisteriopsis*

caapi, a *Forgotten Potential Therapy for Parkinson's Disease?*. Obtenido de la

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

web:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6353393/pdf/MDC3-3-19.pdf>

Enria D., Corso L., Zielinski G. & Ruiz L. (2017). *Bacterias multirresistentes: una amenaza oculta que crece*. RIA / Vol. 43 / N.º 1. Argentina. Obtenido de la web:

http://repo-desa.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/388/RIA_2017_VOLUMEN43_N%C2%BA1_p.6-10.pdf?sequence=1

Enríquez S., Quispe R., Amurrio P., Peñaranda J., Calle A., Orsag V., & Almanza G. (2018). *Contenidos Flavonocidos En Las Hojas De Baccharis Latifolia, Según El Tipo De Hoja, Y Su Dependencia De Las Propiedades Fisicoquímicas De Los Suelos*. Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. Obtenido de la web:

<https://www.redalyc.org/journal/4263/426358213004/html/>

Flores E. & Flores E. (2018). *Estabilidad de Antocianinas, Fenoles totales y Capacidad Antioxidante de Bebidas de Maíz Morado (Zea mays L.) y Uña de Gato (Uncaria tomentosa sp)*. Información Tecnológica Vol. 29(2), 175-184 (2018). Obtenido de la web:

<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000200175>

Fuentes M., Hermosilla G., Alburquenque C., Falconer M., Amaro J. & Tapia C. (2014). *Caracterización de los mecanismos de resistencia a azoles en aislados clínicos chilenos de Candida albicans*. Universidad de Chile. Facultad de Medicina. Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas. Obtenido de la web: <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v31n5/art01.pdf>

Guerrero D., Granda M., Guevara M., Iturralde G., Jaramillo T., Giampieri F., & Alvarez J. (sin año). *Bioactive compounds and antioxidant capacity of Chuquiraga jussieui J.F.Gmel from the highlands of Ecuador. Natural Product*

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Research: Formerly Natural Product Letters. Obtenido de la web:

<https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1548450>

Grau Santiago & Olivia Olivia (2009). *Farmacoeconomía del tratamiento de las candidiasis invasoras*. Servicio de Farmacia, Hospital del Mar, Barcelona, España. Obtenido de la web: [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(09\)70016-6](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(09)70016-6)

Herrera D., Tay L., Rezende E., Kozlowski V. & Santos E. (2010). *In vitro antimicrobial activity of phytotherapeutic *Uncaria tomentosa* against endodontic pathogens*. J Oral Sci. 2010; 52(3): 473-6. <https://doi.org/10.2334/josnusd.52.473>

Hsu H, Sheth C. & Veses V. (2020). *Herbal Extracts with Antifungal Activity against *Candida albicans*: A Systematic Review*. Obtenido de la web: [10.2174/1389557520666200628032116](https://doi.org/10.2174/1389557520666200628032116)

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). *Candida albicans*. Fichas de agentes Biologicos. DB-H-C.a-12. Obtenido de la web: <https://www.insst.es/documents/94886/353749/Candida+albicans.pdf/807f3982-1e35-4c03-b626-a73873867028?version=1.0&t=1528734445955#:~:text=Candida%20albicans%20es%20un%20hongo,de%20forma%20asexual%20por%20gemaci%C3%B3n>.

Li S., Zhang K., Chen Y., Li Z., Hu Q. & Weng Q. (2022). *Antifungal Activity of β-Carboline Alkaloids Compound and Its Resistance Mechanism on *Peronophythora Litchi**. International Journal of Fruit Science, 22:1, 646-663, <https://doi.org/10.1080/15538362.2022.2097154>

Loja B., Alvarado A., Salazar A., Ramos E., & Jurado B. (2017). *Cribado fitoquímico del *Baccharis latifolia* (R&P.) Pers. (chilca)*. Universidad San Martín de Porres. Lima, Perú. Obtenido de la web: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v22n1/pla15117.pdf>

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Lopes B., de Oliveira R., Sonsin J., Fagg C., Figueiredo J. & Caldas E. (2020).

Biodiversity of β-Carboline Profile of Banisteriopsis caapi and Ayahuasca, a Plant and a Brew with Neuropharmacological Potential. Brasil. Obtenido de la web: <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/7/870>

Molina L. (2022). *Caracterización fitoquímica y actividad antimicrobiana del aceite esencial de la planta Chuquiragua (Chuquiraga jussieui J.F. GME).* Milagro – Ecuador. <http://repositorio.unemi.edu.ec/bitstream/123456789/5997/1/MONCAYO%20MOLINA%20LUIS%20SALVADOR.pdf>

Nenaah G. (2010). *Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of Peganum harmala (L) seeds and their combination effects.* Zoology Department, Faculty of Science, Kafrelsheikh University, Egypt. *Fitoterapia* 81 (2010) 779–782. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.04.004>

Nocua L., Uribe P., Tarazona L., Robles R. & Cortés J. (2020). *Azoles de antes y ahora: una revisión.* *Rev. chil. infectol.* vol.37 no.3 Santiago. <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182020000300219>

Kalemba D. & Kunicka A. (2003) *Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils.* *Current Medicinal Chemistry*, 2003, 10, 813-829. doi: [10.2174/0929867033457719](https://doi.org/10.2174/0929867033457719)

Pardi G. & Cardozo E. (2002). *Algunas Consideraciones Sobre Candida Albicans Como Agente Etiológico De Candidiasis Bucal.* *Acta odontol. venez* v.40 n.1 Caracas. Obtenido de la web: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652002000100003&lng=es&nrm=iso

Poulain, Daniel (2015). *Candida albicans, plasticity and pathogenesis.* *Critical Reviews in Microbiology*, 41(2), 208–217. [doi:10.3109/1040841x.2013.813904](https://doi.org/10.3109/1040841x.2013.813904)

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Quindos G. (2002). *Las micosis en el amanecer del Siglo XXI*. Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco, Bilbao, España. Obtenido DE la web: <http://www.reviberoammicol.com/2002-19/001004.pdf>

Robles A. (2019). *Nuevos métodos de diagnóstico clínico e inhibidores de la viabilidad bacteriana para la identificación y el control de las súper-bacterias*. Universidad de Santiago de Compostela (España) en 2019. Obtenido de la web: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=260185>

Rodero L., Córdoba S., Vivot W., Campo M., Corfield P., Olguín C., Cuirolo A., Soria M., Guelfand L., Canteros C, Davel G. & Whonet R. (2006). *Método de difusión con discos para la determinación de sensibilidad a fluconazol en aislamientos de Candida spp*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina. Obtenido de la web: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412006000300012

Rojas A., Pérez J., Hernández J., & Zapata Y. (2020). *Análisis cuantitativo de la Expresión de genes de resistencia a fluconazol en cepas de Candida albicans aisladas al ingreso de adultos mayores a una unidad de cuidados intensivos de Manizales, Colombia*. Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Universidad Católica de Manizales, Manizales- Colombia. Obtenido de la web: <https://doi.org/10.7705/biomedica.4723>

Santana K., Silva E., Amazonas da Silva M., Simplicio de Souza E., Montoia A., Martin A. & Braga de Souza J. (2019). *Screening and Antifungal Activity of a β-Carboline Derivative against Cryptococcus neoformans and C. gattii*. International Journal of Microbiology, 2019, 1–8. doi: 10.1155/2019/7157845

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β-CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

Stephen, J. ., Rankin, I., Harbeck, R., Sautter, R., McCarter, Y., Sharp, S., Ortez, J.,

&

Spiegel, C. (2005). *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana*.

American Society for Microbiology. Solórzano F., Reyna J., Torres M. & Díaz J.

(2008). *Neonatal candidiasis: therapeutic Options*. Mexico. Obtenido de la web:

https://journals.prous.com/journals/servlet/xmlxsl/pk_journals.xml_summaryn_pr?p_JournalId=4&p_RefId=4446

Souza-Júnior U., Pereira J., Pereira M., Costa M., Pereira A. & Antunes R. (2011).

Atividade Antifúngica In Vitro do Extracto da Uncaria Tomentosa L. (Unha De Gato) sobre Cepas do Genero Candida. Pesq Bras Odontoped Clin Integr, João

Pessoa. 2011; 11(4): 477-80. <https://www.redalyc.org/pdf/637/63722200003.pdf>

Thomson L. (2002). *Nuevas alternativas en el armamento anti infeccioso que el*

clínico debe conocer. Rev. chil. infectol. v.19 supl.1 Santiago 2002.

<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182002019100003>

UASLP (2013). *Conteo celular y evaluación de viabilidad*. Standard Operating

Procedures (SOPs). Laboratorio de Genómica Viral y Humana. Facultad de

Medicina UASLP. Obtenido de la web:

http://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Cell_counts_SPA.pdf

Valarezo E., Rosillo M., Cartuche L., Malagón O., Meneses M., & Morocho V.

(2013). *Chemical composition, antifungal and antibacterial activity of the essential oil from Baccharis latifolia (Ruiz & Pav.) Pers. (Asteraceae) from Loja, Ecuador*. Journal of Essential Oil Research, 25(3), 233–238.

<https://doi.org/10.1080/10412905.2013.775679>

Zapata B., Durán C., Stashenko E., Betancur-Galvis L., & Mesa-Arango A. C.

(2010). *Actividad antimicótica y citotóxica de aceites esenciales de plantas de la*

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”

familia Asteraceae. Revista Iberoamericana de Micología, 27(2), 101–103.

<https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.01.005>

8. MATERIAL SUPLEMENTARIO



Anexo 1. Filtración de extractos metanólicos. A. *Uncaria tomentosa*, B. *Chuquiraga jussieui*. C. *Baccharis latifolia*

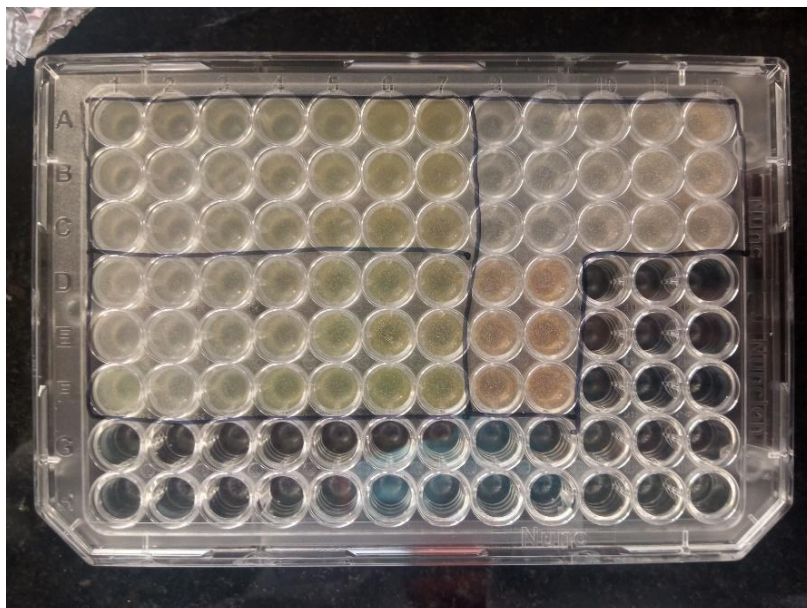


Anexo 2. Destilación de extractos metanólicos en un rotavapor RE100-Pro

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui* y *Banisteriopsis caapi* (β -CARBOLINAS) CONTRA EL HONGO PATÓGENO *Cándida albicans* ATCC 10231”



Anexo 3. Decantación de los extractos (chuquiragua) en la fase Extracto líquido líquido A) sobrenadante B) extracto clorofórmico



Anexo 4. Ensayo de microdilución en caldo. Placa con el inóculo de *Candida albicans* con sus respectivo control negativo y los tres extractos en estudio A) *Chuquiraga jussieui*, B) *Baccharis latifolia*. C) *Uncaria tomentosa*