



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**“EFECTO ANTIFUNGICO *in vitro* DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DEL MASTUERZO DE INDIAS
Tropaeolum majus L., SOBRE *Candida albicans* ATCC
10231”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACEÚTICO**

AUTORES:

Bach. COLQUE CANCHANYA, ANGEL JOSE

Bach. ROJAS MAURICIO, JAQUELIN ANGELICA

ASESOR:

Mg. CÓRDOVA SERRANO, GERSON

LIMA – PERÚ

2020



ACTA DE SUSTENTACIÓN

N° 004-2020-OGYT-FCS-UMA

PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

En San Juan de Lurigancho, a los **13** días del mes de **enero** del año **2020** en los ambientes de la **Sala de Grados**; se reunió el Jurado de Sustentación integrado por:

Presidente : **Dr. Jhonnel Williams Samaniego Joaquín.**

Integrante : **Dr. Randall Jesús Seminario Unzueta.**

Integrante : **Dr. José Edwin Adalberto Rodríguez Lichtenheldt.**

Para evaluar la Tesis:

“Efecto antifungico in vitro del extracto hidroalcohólico del mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*, sobre *candida albicans ATCC 10231*” presentado por: **Bach. ANGEL JOSE COLQUE CANCHANYA.** Participando en calidad de asesor: **Mg. Gerson Córdova Serrano.**

Los señores miembros del Jurado, después de haber atendido la sustentación, evaluar las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica; luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran..... Aprobado..... (Aprobado/Desaprobado) por..... unanimidad..... (Unanimidad/Mayoría) con el calificativo de Aprobado..... [Mención Sobresaliente(18-20)/ Mención Notable(16-17)/ Aprobado(11-15)/ Desaprobado], equivalente a 14....., en fe de lo cual firmamos la presente Acta, siendo las 19:22 horas del mismo día, con lo que se dio por terminado el Acto de Sustentación.

Dr. Jhonnel Williams Samaniego Joaquín
Presidente

Dr. Randall Jesús Seminario Unzueta
Integrante

Dr. José Edwin A. Rodríguez Lichtenheldt
Integrante



ACTA DE SUSTENTACIÓN

N° 003-2020-OGYT-FCS-UMA

PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

En San Juan de Lurigancho, a los 13 días del mes de **enero** del año **2020** en los ambientes de la **Sala de Grados**; se reunió el Jurado de Sustentación integrado por:

Presidente : **Dr. Jhonnel Williams Samaniego Joaquín.**

Integrante : **Dr. Randall Jesús Seminario Unzueta.**

Integrante : **Dr. José Edwin Adalberto Rodríguez Lichtenheldt.**

Para evaluar la Tesis:

“Efecto antifungico in vitro del extracto hidroalcohólico del mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*, sobre *candida albicans ATCC 10231*” presentado por: **Bach. JAQUELIN ANGELICA ROJAS MAURICIO.** Participando en calidad de asesor: **Mg. Gerson Córdova Serrano.**

Los señores miembros del Jurado, después de haber atendido la sustentación, evaluar las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica; luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran..... *Aprobado*..... (Aprobado/Desaprobado) por..... *unanimidad*..... (Unanimidad/Mayoría) con el calificativo de *Aprobado*..... [Mención Sobresaliente(18-20)/ Mención Notable(16-17)/ Aprobado(11-15)/ Desaprobado], equivalente a *14*....., en fe de lo cual firmamos la presente Acta, siendo las *19:25*..... horas del mismo día, con lo que se dio por terminado el Acto de Sustentación.

Dr. Jhonnel Williams Samaniego Joaquín
Presidente

Dr. Randall Jesús Seminario Unzueta
Integrante

Dr. José Edwin A. Rodríguez Lichtenheldt
Integrante

DEDICATORIA

A Dios, por brindarnos la oportunidad de estudiar nuestra carrera profesional y concluirla de forma satisfactoria.

A nuestras familias por confiar en nosotros a lo largo del desarrollo de nuestra carrera profesional, además de brindarnos su apoyo incondicional, motivarnos en los momentos buenos y no tan buenos, y darnos una palabra de aliento cuando más lo necesitamos.

A nuestros docentes por brindarnos los conocimientos necesarios y fundamentales para nuestra formación profesional y poder tener las bases suficientes para el desarrollo de la presente investigación.

AGRADECIMIENTO

A las autoridades de la Universidad María Auxiliadora, de la Facultad de Ciencias de la Salud y Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica por darnos la oportunidad de ejecutar nuestro proyecto de tesis en sus instalaciones.

A nuestro asesor Mg. Q.F. Gerson Córdova Serrano, por su orientación, asesoría y acertados aportes profesionales para la conclusión de la presente tesis.

A nuestras familias, amigos, docentes y demás personas que con sus palabras y buenos deseos han apoyado la conclusión de nuestra carrera profesional y la presente tesis.

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto antifúngico *in vitro* a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico del (Mastuerzo de indias) *Tropaeolum majus L.*, sobre *Cándida albicans* ATCC 10231.

Materiales y Métodos: Tipo de investigación experimental, la muestra fue no probabilística por conveniencia, estuvo conformada por trece placas petri estériles con medio enriquecido de agar Sabouraud-dextrosa fueron sembradas por extensión en placa con *Candida albicans* ATCC 10231. Se preparó el extracto hidroalcohólico de *tropaeolum majus L.* “mastuerzo de indias” En 4 concentraciones 5%,10%,25 y 75%.

Resultados: Se obtuvo que el crecimiento de *candidas albicans*, será inhibido por el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* a partir de una concentración del 10% con halo de inhibición de 11,8 mm que clasifica para el nivel Sensible (+) rango de 8-14 mm según la escala de duraffourd C. y se incrementa hasta un 75% donde la concentración de *candidas albicans* es sumamente sensible con un halo de inhibición mayor a 20mm. Respecto a los resultados obtenidos se procedió a hacer el análisis estadístico de ANOVA sumando a una prueba confirmatoria de kruskal-wallis, los resultados muestran que el p-valor es menor a 0.05 tanto para 24 horas como para 48 horas. Los resultados de kruskal-wallis son concordantes con los resultados de ANOVA esto quiere decir que los diámetros de los halos de inhibición son distintos estadísticamente entre grupos de experimentación.

En términos de comparación fluconazol muestra 12.1mm de halo de inhibición que clasifica para el nivel Sensible (+) con rango de 8-14 mm, que estadísticamente es similar al obtenido por el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* mastuerzo de indias, al 10% con un halo de inhibición 11,8 mm que clasifica para el nivel Sensible (+) rango de 8-14 mm.

Conclusión: Al evaluar el extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*, se confirma que tiene efecto anti fúngico *in vitro* a las concentraciones del 10%, 25% y 75%, sobre *Cándida albicans* ATCC 10231.

Palabras clave: “*Tropaeolum majus L.*”, “*Cándida albicans*”, “Extracto hidroalcohólico”, “Efecto antifúngico”.

ABSTRACT

Objective: To determine the antifungal effect in vitro at different concentrations of the hydroalcoholic extract of the (mastuerzo de indias) *Tropaeolum majus L.*, against *Candida albicans* ATCC 10231.

Materials and Methods: Type of experimental investigation, the sample was not probabilistic for convenience, it consisted of thirteen sterile Petri dishes with enriched medium of Sabouraud-dextrose agar were seeded by plate extension with *Candida albicans* ATCC 10231. The hydroalcoholic extract of *Tropaeolum Majus L.* was prepared. "Mastuerzo de indias" In 4 concentrations 5%, 10%, 25 and 75%.

Results: It was obtained that the growth of candid albicans will be inhibited by the hydroalcolic extract of *Tropaeolum Majus L.* from a concentration of 10% with inhibition halo of 11.8 mm that classifies for the level of Sensitive (+) range of 8-14 mm according to the duraffourd C. scale and increases up to 75% where the concentration of candid albicans is extremely sensitive with an inhibition halo greater than 20mm. Regarding the results obtained, the statistical analysis of ANOVA was carried out, adding to a confirmatory test of kruskal-wallis, the results show that the p-value is less than 0.05 for both 24 hours and 48 hours. The results of kruskal-wallis are consistent with the results of ANOVA, which means that the diameters of the inhibition halos are statistically different between experiment groups.

In terms of comparison fluconazole shows 12.1mm of inhibition halo that classifies for the Sensitive level (+) with a range of 8-14mm, which is statistically similar to that obtained by the hydroalcoholic extract of *Tropaeolum Majus L.* mastuerzo de indias, at 10% with a halo of inhibition 11.8 mm that classifies for the Sensitive level (+) range of 8-14 mm.

Conclusion: When evaluating the hydroalcoholic extract of the *Tropaeolum majus L.* mastuerzo de Indias, it is confirmed that it has an in vitro antifungal effect at concentrations of 10%, 25% and 75%, on *Candida albicans* ATCC10231

Keywords: "*Tropaeolum majus L.*", "*Candida albicans*", "Hydroalcoholic extract", "Antifungal effect".

ÍNDICE

	Página
PORTADA	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTO	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
ÍNDICE	VI
LISTA DE TABLAS	VIII
INTRODUCCIÓN	1
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1. Planteamiento del problema	2
1.2. Formulación del problema	3
1.2.1. Problema general	3
1.2.2. Problemas específicos	3
1.3. Objetivos	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos	4
1.4 Justificación	4
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1 Antecedentes	6
2.2 Base teórica	13
2.3 Definición de términos básico	19
2.4 Hipótesis	20
3. METODOLOGÍA MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1 Tipo de investigación	22
3.2 Nivel de investigación	22
3.3 Diseño de investigación	22
3.4 Área de estudio	23
3.5 Población y muestra: criterios de inclusión y exclusión	23
3.6 Variable y Operacionalización de variables	24
3.7 Instrumentos de recolección de datos	25
3.8 Validación de instrumento de recolección de datos	25

3.9	Procedimiento de recolección de datos	25
3.10	Procedimiento experimental	27
3.11	procedimiento análisis de rendimiento	29
3.12	Procedimiento de análisis de humedad	29
3.13	Análisis cualitativo para prueba de solubilidad del extracto	29
3.14	Marcha fitoquímico del extracto hidroalcoholico	29
3.15	Actividad antimicótica	31
3.16	Procesamiento y análisis de datos	33
4.	RESULTADOS	34
5.	DISCUSIÓN	44
6.	CONCLUSIONES	46
7.	RECOMENDACIONES	47
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
9.	ANEXOS	52
9.1	Matriz de consistencia	53
9.2	Instrumento de recolección de datos	55
9.3	Validación de Instrumento de recolección de datos	56
9.4	Prueba de Kolmogorov-Smirnov	59
9.5	Prueba de Levene	60
9.6	Certificación botánica de la especie	61
9.7	Certificado de Análisis Microbiológico	62
9.8	Imágenes	64

LISTA DE TABLAS

TABLAS	Página
Tabla N° 1. Escala de duraffourd C.	33
Tabla N° 2. porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico <i>Tropaeolum Majus L.</i> Mastuerzo de indias	34
Tabla N° 3. Porcentaje de humedad de las hojas de <i>Tropaeolum Majus L</i>	35
Tabla N° 4. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico <i>Tropaeolum Majus L.</i> Mastuerzo de indias	35
Tabla N° 5. Resultados estudio fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum majus L.</i>	36
Tabla N° 6. Determinación del efecto anti fúngico in vitro de los halos de Inhibición, según la escala de duraffourd C. 1983	37
Tabla N° 7. Medición del efecto antifúngico in vitro de los halos de inhibición en el cultivo, después de 24 horas de incubación	38
Tabla N° 8. Medición del efecto antifúngico in vitro de los halos de inhibición en el cultivo, después de 48 horas de incubación	39
Tabla N°9. Análisis de Varianza del diámetro de los halos inhibición a las 24 horas entre los grupos experimentales	40
Tabla N° 10. Análisis de Varianza del diámetro de los halos inhibición a las 48 horas entre los grupos experimentales	40

Tabla N° 11. Prueba de Kruskal-Wallis del diámetro de los halos inhibición a las 24 horas entre los grupos experimentales	41
Tabla N° 12. Prueba de Kruskal Wallis del diámetro de los halos de inhibición a las 48 horas entre los grupos experimentales	41
Tabla N° 13. Prueba <i>post-hoc</i> de Games-Howell (<i>para varianzas no homogéneas</i>) del diámetro de los halos inhibición a las 24 horas entre los grupos experimentales.	42
Tabla N° 14. Prueba <i>post-hoc</i> de Tukey (<i>para varianzas homogéneas</i>) del Diámetro de los halos inhibición a las 48 horas entre los Grupos experimentales.	43

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación se enfoca en el efecto antifúngico in vitro del extracto hidroalcohólico del mastuerzo de indias *Troapeolum Majus L.* sobre *candidas albicans ATCC 10231* este nos ofrece una alternativa natural, para el tratamiento de *candidas albicans*.

Las candidas es un hongo que se puede presentar en diferentes formas, este microorganismo en condiciones normales no es patológico, caso contrario cuando se alteran los factores predisponentes pueden ocasionar algunas infección en el organismo. Uno de los tratamientos para *candidas albicans* es el Fluconazol.

El uso de las plantas medicinales de manera tradicional fueron actividades cruciales a inicios de la humanidad debido a que las plantas son una materia muy importante por los beneficios terapéuticos que se les atribuye a cada especie vegetal. La popularidad de las plantas medicinales, es amplia debido a los estudios que han evolucionado a gran magnitud dando origen a la creación de drogas sintéticas. Según el avance de la ciencia y la tecnología existen grandes posibilidades de producir nuevos fármacos de origen vegetal como alternativa para tratar las afecciones de distinta índole y con pocos efectos adversos.

Esta investigación busca fomentar las propiedades curativas del mastuerzo de indias, ya que la población hace uso indiscriminado de los fármacos así causando resistencia múltiple de microorganismos.

Esto se profundiza el conocimiento de las especies vegetales impulsando la investigación de las propiedades medicinales que en ella se extraen para el empleo de formas farmacéuticas siendo una fuente valiosa para el tratamiento de enfermedades complejas. La finalidad de esta investigación es validar el conocimiento sobre la actividad antimicótica que produce la especie *Tropaeolum Majus L.* mastuerzo de indias para elaboración de nuevos fármacos siendo de utilidad en enfermedades farmacoresistentes. Así mismo se convierta en una alternativa accesible para la población.

El presente trabajo de investigación exponemos los resultados obtenidos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *tropaeolum majus L.* mastuerzo que permiten su uso como agente antifúngico frente a hongos patógenos como *Candidas albicans*.

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

Las *Cándidas* es un hongo de género unicelular, que se reproducen asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación. Particularmente se tornan patógenos cuando el huésped presenta diversos factores como: fisiológicos (cambios de pH, embarazo), enfermedades debilitantes, diabetes, uso de antibióticos y un sistema inmunitario deteriorado. En los últimos años ha aumentado en forma significativa esta micosis afectando a la población, ya que el avance de la medicina ha tenido un enfoque mayor en el tratamiento de las enfermedades neoplásicas y otras enfermedades de alta mortalidad. En el marco de lo descrito debemos de remarcar que el uso terapéutico y la prescripción extendida de antibióticos de amplio espectro, la alimentación parenteral, el aumento en la esperanza de vida que incrementa las enfermedades crónicas en los adultos mayores y la aparición del virus de la inmunodeficiencia humana son situaciones que producen, ante una respuesta inmunitaria deficiente, alteraciones propicias para la infección oportunista de *Cándidas*.¹⁻³

La mayor parte de las infecciones fúngicas son producidas por *Cándida albicans* (más del 50%) la cual es considerada como uno de los patógenos más frecuentes junto con *Cándida tropicalis*, *Cándida glabrata*, *Cándida parapsilosis* y *Cándida kruseim* y en menor proporción: *Cándida lusitaniae*, *Cándida guilliermondii*, *Cándida kefyr*, *Cándida famata*, *Cándida zeylanoides* y *Cándida dubliniensis*.^{2,4-6}

Los síntomas de *Cándida sp.* Se observan cuando el crecimiento es desmedido y origina el padecimiento *Cándida sp.* Solo se trasmite por relaciones sexuales.²⁻⁴

Las manifestaciones clínicas de candidas son varias, pero las más recurrentes son las cutáneas, mucocutaneas, mucosas, raramente profundas y sistémica.^{2, 5,6}

En el caso de la candidiasis se han utilizado con éxito los azoles y imidazoles, tanto en el tratamiento como en la prevención, aunque en la actualidad no existe esquema terapéutico definido; asimismo el grupo terapéutico disponible para el tratamiento de las micosis en dermatología sigue presentando carencias

y debería de tratarse con nuevos antifúngico alternativos frente a las micosis, aunque su uso terapéutico sigue siendo limitado.^{7,8}

En el marco de lo explicitado, el *Tropaeolum majus L.*, es una planta ornamental originaria de los andes de Sudamérica proveniente de la familia tropaeolaceae que según estudios científicos presenta propiedades terapéuticas como antisépticas, antibacterianas, antiinflamatorias y antifúngicas, dentro de su composición química tiene flavonoides como quercetina, isoquercetina, luteína, kaempferol, zeaxantina, ácido clorogénico, taninos, ácido oxálico, epilantol, entre otros compuestos y que por tanto puede ser utilizado para el tratamiento de la Candidiasis.¹¹

En el contexto de lo presentado, por tanto, es necesario brindar a las personas un tratamiento costo/efectivo, alternativo farmacológico para la candidiasis vulvovaginal, es el caso de la solución a base del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de *Tropaeolum majus L.*, “Mastuerzo”, siendo el propósito básico del estudio determinar el efecto antifúngico *in vitro* en cepas de *Cándida albicans* ATCC 10231.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema General

¿El extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*, tendrá efecto antifúngico *in vitro* frente a *Cándida albicans* ATCC 10231?

1.2.2. Problemas específicos

- a) ¿Qué porcentaje de rendimiento, humedad y perfil de solubilidad tendrá el extracto hidroalcohólico mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*?
- b) ¿Qué metabolitos secundarios tendrá el extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.* ?
- c) ¿Tendrá efecto antifúngico *in vitro* el extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*, frente a *Cándida albicans* ATCC 10231 al 5, 10, 25 y 75%?

1.3 Objetivos:

1.3.1 Objetivo General

Determinar el efecto antifúngico *in vitro* a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*, frente a *Cándida albicans* ATCC 10231

1.3.2 Objetivos específicos

- a) determinar el porcentaje rendimiento, humedad y solubilidad del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*
- b) Identificar los principales metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*
- c) Determinar el efecto antifúngico *in vitro* del extracto hidroalcohólico del Mastuerzo al 5, 10, 25 y 75% frente a *Cándida albicans* ATCC 10231.

1.4 Justificación

En nuestro país, así también como en otros países andinos se utiliza la medicina tradicional, que se basa en siglos de conocimientos recopilados por las culturas ancestrales y que aportan a los conocimientos científicos de la medicina convencional. Si bien la medicina tradicional pertenece a nuestras raíces, su práctica ha continuado a lo largo de los años y se ha mantenido viva mayoritariamente por los pueblos de más bajos recursos, quienes encuentran en ésta una alternativa. Sin embargo, a pesar de ser nuestro país rico por su diversidad cultural, con el tiempo se ha ido perdiendo su práctica.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reconocido la importancia de la medicina tradicional en el control de la salud desde 1975. Ya que se estima que un 80% de la población mundial depende de las plantas para su atención primaria de la salud, por ser la medicina natural la única disponible. Actualmente, se desea rescatar la medicina tradicional y en base a ésta, buscar nuevas opciones terapéuticas con el propósito de obtener resultados confiables, ya que viene creciendo una insatisfacción hacia la medicina convencional, por la falta de efectividad, efectos colaterales que provocan el uso de ciertos medicamentos o por su elevado costo. Debido a la envergadura

de las plantas medicinales en la salud se considera materia de estudio, análisis y utilización con el propósito de que los beneficios de éstas se encuentren al alcance de la población de bajo recursos económicos.⁸

La abundancia y gran diversidad de estas plantas en forma silvestre y su fácil comercialización por los bajos costos que tienen, posibilitan su adquisición por los pacientes de bajos recursos, para sustituir a los medicamentos de síntesis química de altos costos. El Perú cuenta con una gran diversidad en su flora, donde habría alrededor de 80 mil especies vegetales (20% de las existentes en la tierra), de las cuales solamente 2000 se vienen empleando con fines terapéuticos. En la Región Nor - andina de Cajamarca, Perú, existen variados ecosistemas, el tropical, el templado y el frío; es por estas características que se puede encontrar en Cajamarca una biodiversidad inmensa e invaluable de plantas medicinales, que el hombre a lo largo de su estancia ha logrado manipular y aprovechar.^{8,9}

Se ha considerado para nuestro estudio, a la planta *Tropaeolum majus L.*, que es una planta originaria de Sudamérica y nativa de nuestro país, muy utilizada por las comunidades al poseer diversas propiedades, entre ellas desinfectante, antimicótico, antibiótico, antiinflamatorio, en resfriados, en desinfección y cicatrización de heridas, sin embargo, aún no se cuenta con evidencia científica sobre el efecto anti fúngico siendo necesario desarrollar estudios para establecer este efecto. (Ismael, M. 2008; Perú Ecológico. 2000) Es por ello, que este trabajo de investigación tiene como objetivo principal determinar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” a diferentes concentraciones, frente a cepas de *Cándida albicans* ATCC10231; responsable de muchas patologías como la candidiasis oral, vaginal y onicomycosis, que afectan a la población en general, siendo este extracto hidroalcohólico una alternativa para el tratamiento de la micosis producida por este tipo de hongo, en formas farmacéuticas de bajo costo.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Aguilar R, Juep W. (2018), llevo a cabo un estudio sobre “Determinación de la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii*”; siendo el objetivo: determinar la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* tanto en forma de levadura como de filamento. El método fue experimental en el que se trabajó para cada forma de crecimiento, la muestra fue en una placa control y cinco placas problema con agar Sabouraud como medio de cultivo; a las placas problema se agregó el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus L.*, a concentraciones de 5, 10, 20, 40 y 80µL/ml, se procedió a la siembra del hongo *Sporothrix schenckii* y posteriormente se incubaron a 37°C por 48 horas para determinar la actividad antifúngica en forma de levadura y a 25°C por 15 días para la forma de filamento. Los resultados obtenidos (medidos con el Vernier) se contrastaron y compararon con la prueba estadística U de Mann–Whitney, obteniéndose para ambas formas de crecimiento de *Sporothrix schenckii* un valor de $p=0,25$ en todas las concentraciones del extracto hidroalcohólico (5, 10, 20, 40 y 80µL/ml), indicando diferencia significativa; sin embargo, al comparar las placas problemas entre sí, se obtuvo un valor de ($p=1,00$), mostrando que no existe diferencia significativa. La conclusión fue que el extracto hidroalcohólico tiene actividad antifúngica in vitro frente a *Sporothrix schenckii* en sus dos formas de crecimiento.¹⁰

Aguilar, et al (2017), Realizo otro estudio sobre “Efecto del extracto etanólico de *Tropaeolum majus L.* (mastuerzo) sobre micosis inducida por *Trichophyton mentagrophytes* en *Rattus norvegicus*”; el objetivo del estudio fue determinar el efecto del extracto etanólico de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” sobre la micosis inducida por *Trichophyton mentagrophytes* en *Rattus norvegicus*. El método del modelo fue experimental aleatorio, la muestra incluyó 21 especímenes RN machos, a los cuales se indujo una infección micótica mediante modelo de infección superficial en piel; posteriormente al desarrollo

de ésta, se dividieron aleatoriamente en tres grupos de 7 especímenes cada uno; siendo tratados con placebo (Grupo I), ungüento preparado con el extracto etanólico de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” al 0,4% (Grupo II) y terbinafina al 1% (Grupo III), durante 30 días consecutivos, respectivamente. Se realizó un examen clínico de signos y síntomas presentes en las micosis de piel, evaluados a través de una escala arbitraria cualitativa ordinal adaptada para este estudio, asimismo, de estudio micológico con KOH al 20% y por cultivo en Agar Dextrosa Sabouraud para confirmar la dermatofitosis antes y después del tratamiento. El resultado salió que el Grupo II presentó disminución significativa de los signos clínicos comparado con el Grupo I ($p = 0,001$), mientras que al compararlo con el Grupo III se obtuvo una evolución clínica positiva para ambos grupos ($p = 0,05$). La conclusión es que el extracto etanólico de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” posee un efecto antimicótico sobre la micosis inducida por TM en RN ($p < 0,05$), pudiendo ser una alternativa segura para tratamiento tópico de tiña.¹¹

Tenorio (2017), de título “Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Tropaeolum majus L.*, (mastuerzo) sobre *Escherichia coli* aislada de pacientes con Infecciones del Tracto Urinario”; Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo - Lambayeque. El objetivo general fue determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” a concentraciones de 30%, 40% y 50% sobre *Escherichia coli*, aislada de pacientes con infecciones del tracto urinario. El método utilizado fue experimental y la muestra que se trabajó fueron 5 cepas de *Escherichia coli*, 3 concentraciones (30%, 40%, 50%) del extracto etanólico y 9 repeticiones por cada interacción, el número total de observaciones fue de 135 unidades experimentales. La identificación de *E. coli*, se realizó según la metodología de Sacsa Quispe y Ventura, 2001 y para la determinación del efecto inhibitorio se utilizó el método modificado de difusión de Kirby Bauer (Kinsbruy et al., 1991). El resultado fue que el extracto etanólico de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” a concentraciones de 30%, 40% y 50% produjo halos de inhibición promedios de 20.11, 23.57 y 26.55 mm en las cepas de *Escherichia coli*. En conclusión, el extracto etanólico de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” tiene efecto

inhibitorio in vitro sobre *Escherichia coli*, el cual es estadísticamente dependiente de la cepa de *E. coli* y de las concentraciones del extracto.¹²

Bastidas (2016), de título “Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de las flores de la especie vegetal mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) Frente al crecimiento del microorganismo *Penicillium sp*”; Universidad Nacional del Centro del Perú. El objetivo general fue evaluar la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de las flores de la especie vegetal mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) frente al crecimiento del microorganismo *Penicillium sp*. El método de estudio fue experimental y la muestra consideró evaluar la cantidad de fenoles totales presentes en los extractos metanólicos de las flores de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) a través de la prueba de Folin Ciocalteu; los extractos se obtuvieron de la maceración con metanol durante 48 horas en refrigeración, para luego ser concentrados al vacío en una rota evaporadora a 40°C. Los resultados encontrados fueron que las flores de mastuerzo tienen cantidades significativas de fenoles, siendo el extracto metanólico de mastuerzo rojo que presentó mayor cantidad siendo ésta de 688.21 mg GAJ ml de extracto, significando que la concentración de cada compuesto fenólico varía de acuerdo al color de la flor. Se realizaron extracciones de metabolitos secundarios de flores de *Tropaeolum majus* L., usando como solvente etanol y se identificó la presencia de quinonas, taninos, como principales constituyentes. Se reportó la actividad antifúngica de extractos obtenidos de flores (amarillo, anaranjado y rojo) de Mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.), cuyas muestras fueron colectadas en el cerrito de la Libertad y Quichuay en la provincia de Huancayo. Se estudió la actividad antimicrobiana con el método de Kirby Bauer o disco difusión. La cepa utilizada fue *Penicillium sp.*, que fue aislada del pan con moho verde, lo cual mostró actividad antimicrobiana del extracto metanólico de flores frente a *Penicillium sp.* (8 a 15mm). En conclusión, el extracto metanólico de flor roja de mastuerzo fue quien mostró un mayor diámetro de inhibición a una concentración del 100 % y por último se comparó la concentración mínima inhibitoria de los extractos, teniendo como resultado que la CMI del mastuerzo rojo es de 60%, y del mastuerzo amarillo y anaranjado es de 70%.¹³

Bezada et al (2016), de título “Evaluación del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus L.* (mastuerzo) en formulación crema para el tratamiento de la dermatomicosis causada por *Trichophyton mentagrophytes* en el cuy (*Cavia porcellus*)”;(UNMSM). El objetivo general fue determinar la eficacia del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” en formulación crema, para el tratamiento de la dermatomicosis en cuyes, como alternativa de tratamiento para esta enfermedad. El método fue experimental en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), se realizó la selección de la muestra a 30 cuyes machos, de 1,5 a 2 meses de edad, con presencia de zonas alopécicas cubiertas de escamas y piel engrosada alrededor de ojos, frente y nariz. Al análisis microbiológico de las lesiones, se confirmó la presencia de *Trichophyton mentagrophytes*. Los animales se dividieron en tres grupos: Grupo 1: a los cuales se aplicaron el extracto hidroalcohólico en formulación crema al 1,5%, Grupo 2: en este grupo se administró el extracto hidroalcohólico en formulación crema al 0,5% y Grupo Control: en el que se empleó una mezcla homogénea de hidrocarburos saturados (vaselina). Se realizaron dos aplicaciones de la crema a base del extracto hidroalcohólico sobre las lesiones por cada grupo tratado con un intervalo de tres días entre la primera y segunda aplicación. Los resultados obtenidos se evaluaron y registraron semanalmente hasta la desaparición de escamas y regeneración de la piel. El grupo 1 mostró la desaparición completa de las lesiones en la tercera semana pos tratamiento, mientras que el grupo 2 lo hizo a la cuarta semana pos tratamiento. El grupo control no evidenció ninguna mejoría en el mismo periodo de tiempo. La conclusión fue que el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus L.*, “mastuerzo” en formulación crema al 1,5% tuvo la mayor acción fungicida contra *Trichophyton mentagrophytes*.¹⁴

Bazylko A, et al. (2013), llevaron a cabo un estudio sobre “Comparison of antioxidante, anti-inflamatoria, antimicrobial activity and chemical composition of aqueous and hydroethanolic extracts of the herb of *Tropaeolum majus L.*”, el objetivo del estudio fue comparar la actividad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana, así como la composición química de los extractos de la hierba *Tropaeolum majus L.* Se estudiaron extractos acuosos y derivados de la hierba

mastuerzo secada y liofilizada, preparados tanto a temperatura ambiente como a 90 ° C. En los estudios no hubo diferencias significativas entre la actividad antioxidante de los extractos. Todos los extractos mostraron actividad de eliminación contra todas las especies reactivas examinadas de una manera dependiente de la concentración. La actividad de eliminación más fuerte que mostraron contra las especies reactivas de nitrógeno, NO • (SC50 4.54 ± 0.26–10.90 ± 1.39? G / mL) y ONOO– (SC502.49 ± 1.50–6.37 ± 1.86? G / mL). Entre las especies reactivas de oxígeno, mostraron una fuerte actividad de eliminación contra el H2O2 (SC50 14.90 ± 3.91–38.63 ± 9.28 g / ml). Los extractos demostraron una actividad antioxidante más fuerte en un experimento in vivo con neutrófilos humanos. Los extractos no mostraron actividad inhibitoria sobre la hialuronidasa, pero a una concentración de 50 µg / ml inhibieron la actividad de la COX1 en aproximadamente el 60%. La falta de actividad antimicrobiana de los extractos parece estar asociada con un bajo contenido de isotiocianato de bencilo. Los extractos acuosos se caracterizaron por la presencia de ésteres de ácido químico con ácidos cinámicos (ácidos clorogénicos, ácidos p-cumaroilquínicos) y la presencia de flavonoides. Mientras tanto, los extractos hidroanólicos eran principalmente ricos en los ésteres ácidos mencionados anteriormente.¹⁵

Gomes C, et al. (2013), realizaron un estudio sobre “Evaluation of subchronic toxicity of the hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* in Wistar rats”, siendo el objetivo del estudio evaluar la toxicidad subcrónica en ratas Wistar. Fue un estudio experimental de laboratorio, las ratas Wistar macho y hembra recibieron tres dosis de HETM (75, 375 y 750 mg / kg) durante 28 días. Después de los tratamientos se analizaron los parámetros bioquímicos, hematológicos e histopatológicos. Los resultados mostraron que no se observaron alteraciones significativas en el aumento de peso corporal del animal, el peso relativo de los órganos, el análisis bioquímico del suero, los análisis hematológicos o histopatológicos del hígado, los riñones y el bazo. Concluyendo que hay ausencia de toxicidad subcrónica debida al tratamiento oral con extracto hidroetanólico obtenido de las hojas de *T. majus* (HETM)

durante 28 días en ratas Wistar. Sin embargo, otros estudios toxicológicos son necesarios para evaluar la seguridad total de esta planta.¹⁶

Jurca T, et al. (2018), llevaron a cabo otro estudio sobre “The effect of *Tropaeolum majus* L. on bacterial infections and in vitro efficacy”, el objetivo del estudio fue identificar los compuestos fenólicos de las flores comestibles de *T. majus* en relación con su capacidad antioxidante y la actividad antimicrobiana contra diferentes bacterias y *Candida albicans*. Fue un estudio experimental de laboratorio, se sometió a exposición a condiciones normotónicas e hipertónicas. Los principales ácidos fenólicos, identificados por HPLC-RP con detección UV, fueron ácido gálico, ácido cafeico y p-cumarico y los flavonoides predominantes fueron quercetina, epicatequina y luteolina.

El extracto exhibió una semana de efecto antibacteriano sobre algunas cepas de estreptococos, sin antimicóticos efecto antibacteriano sobre bacterias gram negativas. El extracto de *T. majus* aumentó las expresiones p53 y Bcl-2 y disminuyó las lesiones de ADN que indicaban los efectos protectores y antiapoptóticos in vitro, sobre las células endoteliales expuestas a estrés hiperosmótico. Se concluye en base a los hallazgos que *T. majus* puede ejercer cierta protección contra bacterias e infecciones y reducen la apoptosis y lesiones de ADN en condiciones hipertónicas.¹⁷

Sherif, N. H. (2014).en otro estudio sobre “Influence of *Tropaeolum Majus* Leaves Extract in Ameliorating Damage Induced by Gamma Radiation in RatsQ”, el objetivo del estudio fue establecer el efecto del extracto hidroetanólico de *Tropaeolum majus* leaves (HETM), en la modulación de la toxicidad y el estrés oxidativo inducido por la exposición a la radiación gamma (IR) en el hígado de ratas macho. Fue un estudio experimental de laboratorio, se administró HETM (300 mg / kg de peso corporal) a ratas albinas macho por sonda nasogástrica durante 21 días sucesivos antes de la exposición de todo el cuerpo a rayos gamma (6 Gy) y durante 7 días después de la irradiación. Los animales se sacrificaron en el séptimo día después de la irradiación. Los resultados evidencian que la exposición a la radiación gamma provocó una disfunción hepática que se manifestó por aumentos significativos ($p < 0.05$) en

el nivel plasmático de la alanina aminotransferasa (ALAT), aspartato aminotransferasa (ASAT), fosfatasa alcalina (ALP), colesterol total, lipoproteína de baja densidad (LDL-C) y triglicéridos. Además, el IR indujo estrés oxidativo como lo indica un aumento significativo en el nivel de sustancia reactiva al ácido tiobarbitúrico (TBARS) con una disminución concomitante en el contenido reducido de glutatión (GSH), así como en la actividad de superóxido dismutasa, (SOD) y catalasa (CAT) en el tejido hepático. El tratamiento previo con HETM en ratas tratadas con IR alivió las alteraciones mencionadas anteriormente en los parámetros de estrés bioquímico y oxidativo y restableció sus valores hacia el valor normal del grupo de control. Concluyendo que el extracto hidroetanólico de *T.majus* le aves por sus componentes bioactivos y contenido de elementos traza esenciales podría atenuar la gravedad de los trastornos bioquímicos inducidos por la radiación en los tejidos hepáticos.¹⁸

Lourenço E, et al. (2011), llevaron a cabo un estudio sobre “ATIVIDADE DE *Tropaeolum majus* L. SOBRE A MOBILIZAÇÃO EMIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA EM MODELO DE BOLSÃO INFLAMATÓRIO”, el objetivo de este estudio fue evaluar el perfil de la migración de leucocitos durante una respuesta inflamatoria después de un tratamiento subcrónico con *T. majus*. Fue un estudio experimental de laboratorio, las ratas Wistar macho fueron tratadas durante cinco días con tres diferentes dosis de extracto hidroalcohólico (HETM) obtenidas de *T. majus* (75, 150 y 300 mg / kg). Los animales de control recibieron equivalente volumen de solución salina (5,0 ml / kg) o indometacina (5,0 mg / kg). Durante este período, los animales recibieron 10 ml de aire estéril en el subcutáneo. Cavidad (bolsa de aire) en tres días alternos. En el quinto día, una hora después del tratamiento, la respuesta inflamatoria fue inducida por administración de 1 ml de solución de carragenina (1%) en la cavidad subcutánea, y 6 horas después, se recogieron muestras de sangre y exudado. Los resultados mostraron que la indometacina redujo la migración de leucocitos en los exudados alrededor del 65%. El HETM a dosis de 75 y 300 mg / kg también redujo significativamente la migración de estas células, con valores de 23 y 40%, respectivamente.

Concluyendo que si hay actividad antiinflamatoria de *T. majus* en este modelo experimental.¹⁹

2.2 Base teórica

2.2.1 Descripción botánica del Mastuerzo de Indias.

Planta anual suculenta, lampiña y arbustiva según la variedad, con tallos trepadores o rastreros que se expanden alrededor del centro. Posee hojas orbiculares, ligeramente lobulado o peltadas con el limbo entero, fuertemente divididas con una notable venación, tienen de 4 a 10 cm de diámetro; largos pecíolos, encogidos en espiral. Pétalos enteros, unguiculados, los tres inferiores más angostos, con las uñas laciniadas. Flores tubulares rojizas, anaranjadas o amarillas, abiertas al final en forma de trompeta, de 3 a 4 cm de diámetro; cáliz amarillento, prolongado hacia atrás en un espolón de 2 a 3 cm de largo; fruto subcarnoso, de 1 - 1,5 cm de diámetro, globoso, con tres ángulos redondeados. Florece desde la primavera hasta el otoño y se reproduce por gajos y semillas. Existen diferentes variedades enanas, dobles, etc.¹⁹ Que son las que encontramos frecuentemente y que van a servir para la extracción del producto necesario para nuestra investigación.

Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Geraniales

Familia: Tropaeolaceae

Género: Tropaeolum

Especie: *Tropaeolum majus* L.

Nombre común: Mastuerzo¹⁸

Hábitat y distribución:

Es nativa de la región Andina de Sudamérica, más precisamente de Perú. Se distribuye en Colombia, Ecuador y Perú, puede resultar invasiva, compitiendo con la flora propia del área.¹⁴

Esta planta ha sido cultivada desde épocas prehispánicas y se desarrolla de manera silvestre en las vertientes occidentales andinas, así como en jardines, campos agrícolas y matorrales en los que ha intervenido el hombre. Es una planta ornamental, trepadora o rastrera en Lima la encontramos en parques y jardines en temporada de otoño.¹⁹

Propagación

El mastuerzo es una planta fácil de cultivar se reproduce por medio de semillas, aunque también puede hacerlo en menor medida vegetativamente, rebrotando cada año de las raíces tuberosas. Su polinización es entomófila, es decir, por medio de mariposas.¹⁹

Cabe resaltar la facilidad de su propagación y obtención que permitirá su adecuada utilización en la elaboración del extracto propuesto en nuestra investigación.

Partes utilizadas:

Se utilizan generalmente toda la planta, sus hojas, flores, frutos; excepto sus raíces. En la investigación utilizaremos hojas porque tienen mayor concentración de metabolitos secundarios.⁶

Composición química

- Flavonoides como quercetina, isoquercetina, luteína, kaempferol, zeaxantina.
- Glucotropaelósido, se trata de un heterósido sulfurado o glucosinolato. Se descompone de glucotropaeolina o isocianato de bencilo (tiocionato del aparato respiratorio).
- Ácido clorogénico, taninos, sales minerales, ácido oxálico, espilantol.

- Ácidos fenólicos como el ácido p – hidroxibenzoico, ácido p – hidroxifenilacético, ácido vanílico, ácido gentísico, ácido cafeico, ácido protocatequico, ácido siringico, p – cumarico.
- Ácidos grasos como el ácido erúxico, ácido oleico y linoléico.
- Ácidos esenciales con heterósidos sulfurados (glucotropeolósido), que liberan isotiocianato de bencilo.
- Antocianidinas como delfinida, cianidina, pelargonidina.
- Triterpenos tetracíclicos aislados de las hojas.
- Ácido ascórbico e isoquercitrósido presente en las hojas.
- Helenina y mirosina contenidos en las flores.
- Pigmentos como la sorbusina, carotenoides, resinas y pectinas.
- Presenta un alto contenido de vitamina C.^{18,23,19,22}

Mediante el análisis fitoquímico se determinará cualitativa y cuantitativamente los metabolitos secundarios del mastuerzo de indias *tropaeolum majus L.*⁷

Usos terapéuticos

El mastuerzo se ha utilizado desde la antigüedad en la medicina popular en infecciones de las vías respiratorias como en casos de faringitis, sinusitis y especialmente en bronquitis ya que fluidifica la expectoración. Es usado en infecciones de las vías urinarias como cistitis y pielonefritis. Debido a sus propiedades antibióticas y antimicóticas, resulta un excelente desinfectante, ideal para limpiar heridas superficiales.¹⁹

Razón por la cual la utilizaremos en cepas de *Candida albicans* también posee acción antibacteriana principalmente contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bordetella bronchiseptica*.

Mecanismos de Acción

Isotiocianato de benzilo: Su efecto antimicrobiano consiste en la ruptura de la membrana celular por inhibición de enzimas esenciales. Este compuesto nos

permitirá destruir la barrera de protección por inoperancia de las enzimas esenciales.²¹

Taninos: Tras una hidrólisis ácida liberan una antocianidina. Químicamente se trata de polímeros de flavanoles su función antimicrobiana y antimicótica se debe básicamente a que se priva de nutrientes a los microorganismos evitando así su desarrollo y multiplicación. Este metabolito secundario de acción lítica daña al hongo dimórfico de la *Candida albicans*, destruyendo la membrana celular.²¹

Toxicidad

Las semillas son la parte más tóxica de la planta, se recomienda evitar su administración oral. El principio activo tóxico principal es un aceite esencial glucósido

Llamado tiocianato de bencilo o glucotropaeolina; sin embargo, ingerido en dosis terapéuticas se le atribuyen propiedades bacteriostáticas, virustáticas y antimicóticos, aplicado tópicamente presenta actividad hiperémica.²¹

El uso irracional por la vía oral de esta planta será muy tóxico y dañino para el ser humano.²³

Estudios de extractos acuosos e hidroetanólicos de hojas y corteza de *Tropaeolum majus L.*, en ratones, a dosis de: 625, 1250, 2500 y 5000 mg/kg, no mostraron signos de toxicidad, como muerte, depresión, excitación, convulsiones, salivación, piloerección, lacrimación, anormalidades en la defecación o efectos sobre la respiración y la locomoción.²⁴ Este estudio indica que a cierta dosis en animales de experimentación en este caso ratones demostró varios signos por el exceso de una dosis elevada de este metabolito secundario.²¹

Por otro lado, en un estudio sobre el efecto del extracto hidroetanólico de hojas de *Tropaeolum majus L.*, en el desarrollo embrionario cuando se administra dosis de 300 mg/kg a ratas gestantes, aumentó significativamente los niveles séricos de hidroepiandrosterona (DHEA) y de estradiol. El aumento de la concentración de esta hormona puede estar relacionada con la

reducción de la implantación de embriones en las primeras etapas del embarazo y por lo tanto inhibirlo.²⁵

Por ello que utilizaremos a diferentes concentraciones el extracto hidroalcoholico del mastuerzo de indias para nuestra investigación.

2.2.2 *Cándida albicans Spp*

El género *Candida sp.* Abarca alrededor de 150 especies, la mayoría de las cuales no afecta al hombre, la *Candida albicans* es una levadura dimorfa responsable 70 al 80% de las candidiasis. Aparece con frecuencia como saprófito colonizando el oro faringe hasta en un 50% de la población y la mucosa vaginal hasta en un 25% de mujeres asintomáticas; sin embargo, no es frecuente aislarla en piel sana, con excepción de los pliegues.²⁶

El hongo afecta a mujeres provocando candidiasis, esta patología prolifera frecuentemente en la vagina.

Candida albicans hongo dimórfico y saprofito proveniente del *Phylum Ascomycota*, que morfológicamente presenta pseudohifas, hifas y blastoconidios subesféricos (3-8 x 2-7 µm), este saprofito coloniza la vagina, el tracto digestivo y respiratorio. Puede infectar la piel, uñas, membranas y mucosas, pero en pacientes inmunodeprimidos la complicación de la enfermedad es altamente riesgosa. ²⁷

La candidiasis es una enfermedad de origen fúngico que presenta una creciente incidencia, afectando sobre todo a pacientes inmunodeficientes (trasplantados, leucopenicos, enfermos de SIDA, etc.), hospitalizados de larga duración, pacientes sometidos a cirugía extensa, cateterizados o sondados y pacientes que siguen una terapia antibiótica de tiempo prologado. Por lo general estas lesiones causadas por cándidas en la membrana mucosa y piel no son muy graves pero si perjudiciales para la salud si afecta al sistema digestivo o sistema respiratorio.

Las afecciones provocadas por cándida afectan distintas partes del cuerpo:

- La candidiasis oral provocada por hongos causa manchas blancuzcas en la boca.

- La esofagitis (candidiasis oral) que se propaga hacia el esófago. esta afección puede provocar dolor y dificultad al deglutir.
- Las infecciones vaginales por *Candida* generan picazón, dolor y secreción vaginal.
- Las afecciones en la piel por *Candida* provocan picazón y erupciones cutáneas.
- La candidiasis invasiva puede poner la vida en peligro ya que se propaga por el flujo sanguíneo a otras partes del cuerpo.

Diagnóstico: El diagnóstico de la candidiasis invasora presenta hasta ahora una variedad de problemas asociados con los síntomas propios del diagnóstico de la enfermedad. La candidiasis presenta una baja especificidad y sensibilidad, de realización en los laboratorios de microbiología clínica.²⁷

Tratamiento: Con antimicóticos se pueden solucionar las infecciones por *Candida* en la mayoría de las personas. Si tiene el sistema inmunológico debilitado, el tratamiento puede ser más difícil.²⁶ Por lo general el tratamiento con anti fúngicos se administra por vía oral ya que estos van a detener la proliferación de esta levadura.

Por ejemplo, los pacientes con VIH positivo o bajo tratamientos inmunosupresores con tratamiento de tumores o después de un trasplante.²⁸

Básicamente, las heridas ocasionadas por *Candida albicans* en la piel, membranas y mucosas no causan ningún daño terapéutico, pero pueden ser de alto riesgo para la salud cuando atacan al sistema digestivo y respiratorio. En caso de la septicemia provocada por *Candida albicans* su pronóstico es grave.²⁸

La *Candida albicans* se manifiesta de una forma particular, dependiendo de su localización. En pacientes inmunodeprimidos se manifiestan en forma llagas a nivel de la boca, enrojecimiento de la piel y picor con amplia frecuencia en las zonas de los pliegues. Mientras que en zonas cálidas y húmedas se forma y se desarrollan en forma de levadura, como se da en el caso de infecciones localizadas en los genitales, por ejemplo, vaginitis en las mujeres y uretritis en varones. Sin embargo en

los pacientes inmunodeprimidos, el hongo crece principalmente en la boca y esófago.²⁸

Candida albicans en una infección cutánea requiere el tratamiento con antifúngico con ungüento y polvos antifúngicos, con el fin de detener paulatinamente la proliferación de esta levadura. Este tratamiento es eficaz, pero no elimina las recaídas. También se trata con medicamento antifúngico que se administra por vía oral.²⁸

Para reducir la proliferación de *Candida albicans* en el cuerpo se necesita una dieta saludable. Sin embargo la prevención requiere una higiene adecuada. Su origen es difícil de anticipar en pacientes con VIH avanzado y también para pacientes inmunodeprimidos.²⁶

Por ello el extracto hidroalcohólico del mastuerzo de indias que posee actividad antifúngica asociado con el tratamiento antirretroviral, sería el más adecuado para este tipo de pacientes.

2.3 Definición de términos básicos

- **Extracto hidroalcohólico:** Son extractos líquidos concentrados, obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella, utilizando como solvente alcohol y agua.²⁸ Este extracto líquido que se obtendrá de la disolución de nuestro mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.* con el solvente que es agua será la parte fundamental de nuestra experimentación
- **Antifúngico:** Medicamento que trata las infecciones causadas por hongos.²⁹ Se utiliza para combatir la proliferación de hongos ya sea en nuestro caso *candidas albicans*.
- **Halo de inhibición:** Es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen.³⁰ Este halo se medirá y se llegará a visualizar en nuestra experimentación, por lo cual nos indicará si hay o no el crecimiento de *candidas albicans*.
- **Agar sabouraud:** Medio de cultivo recomendado para el aislamiento y desarrollo de hongos, particularmente los asociados con infecciones cutáneas (piel, pelo).³¹ Medio de cultivo idóneo para el crecimiento de *candidas albicans*, necesario para nuestra investigación.

- **In vitro:** Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo.³² Generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. Técnica de la cual se desarrollará en nuestra investigación.
- **Cepas:** Población de células de una sola especie descendientes de una única célula, usualmente propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definatorias.³³ Esta colección de cultivos es el que se usara en nuestra investigación.
- **Pie de rey o Vernier:** Es un instrumento para medir dimensiones de objetos relativamente pequeños, desde centímetros hasta fracciones de milímetros.³⁴ Este instrumento nos permite medir y leer un calibre en milímetros, esto nos ayuda a saber exactamente los promedios de diámetro de los halos de inhibición que se formara en cada placa.
- **Muguet:** Es una infección por hongos *Candida albicans* muy común en los bebés.³⁴ Esta infección causa irritación dentro y alrededor de la boca del bebé.
- **Onicomycosis:** Se trata de la infección de las uñas por hongos como *Candida albicans*.³⁵ Esta especie es la más frecuente de todas las onicomycosis.

2.4 Hipótesis

2.4.1 Hipótesis General

El extracto hidroalcohólico de Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.* tendría la capacidad de inhibir el crecimiento de *Cándida albicans* ATCC10231.

2.4.2 Hipótesis Específicas

- a) El extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.* tendría un porcentaje de rendimiento, humedad por debajo del 50% y es soluble en solventes hidroalcohólicos.

- b) El extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.* podría contener flavonoides como quercetina, isoquercetina, luteína, kaempferol, zeaxantina, ácido clorogénico, taninos, ácido oxálico, espilantol.
- c) El extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.* tendría efecto antifúngico in vitro frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, al menos en uno de los porcentajes establecidos 5, 10, 25 y 75 %.

3. METODOLOGÍA

3.1 Tipo de investigación.

La investigación es de tipo aplicada.

3.2 Nivel de investigación

El nivel de investigación del presente estudio es explicativo.

3.3 Diseño de la investigación

El diseño de la investigación es experimental.

Diseño gráfico: diseño experimental con pos pruebas, varios grupos y uno de control.

R	G1	X1	O1	O5
R	G2	X2	O2	O6
R	G3	X3	O3	O7
R	G4	X4	O4	O8

Fuente: Hernández-Sampieri³⁶

R = Asignación al azar o aleatorización de los cultivos en placa Petri a cada grupo.

G1 = Grupos 1 de cultivos en placas de Petri, de *Cándida albicans* ATCC10231

G1 = Grupos 2 de cultivos en placas de Petri, de *Cándida albicans* ATCC10231

G1 = Grupos 3 de cultivos en placas de Petri, de *Cándida albicans* ATCC10231

G1 = Grupos 4 de cultivos en placas de Petri, de *Cándida albicans* ATCC10231

X1 = Tratamiento, extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus* L., al 5%

X1 = Tratamiento, extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus* L., al 10%

X1 = Tratamiento, extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus* L., al 25%

X1 = Tratamiento, extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus* L., al 75%

O1 = Medición del efecto anti fúngico in vitro sobre *Cándida albicans* ATCC10231. Medición a los halos de inhibición a las 24 horas de incubación.

O2 = Medición del efecto anti fúngico in vitro sobre *Cándida albicans* ATCC10231. Medición a los halos de inhibición a las 48 horas de incubación.

3.4 Área de estudio

El estudio se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Universidad María Auxiliadora, Av. Canto Bello N° 431 distrito de San Juan de Lurigancho, Lima – Perú.

3.5 Población y muestra.

Población: La población estuvo conformada por cepas de *Cándida albicans* ATCC1023.

Muestra: La muestra fue no probabilística por conveniencia, estuvo conformada por Trece placas Petri estériles con medio enriquecido de agar Sabouraud-dextrosa fueron sembradas por extensión en placa con *Candida albicans* ATCC 10231.

Criterios de inclusión

- Se trabajó solamente con cepas certificadas de *Cándida albicans* ATCC10231.
- Cultivos que contengan un mínimo de espesor de 5 mm.
- Cepas de *candidas albicans* manteniendo condiciones adecuadas de temperatura, tiempo de almacenamiento y que no han sido sometido a acción de cualquier sustancia.

Criterios de exclusión

- No formaron parte de la muestra del estudio aquellas cepas de *Cándida albicans* no certificadas ATCC10231.
- Cepas de *candidas albicans* mantenidos en condiciones inadecuadas de temperatura, manipulación o que han sido sometidos a la acción de cualquier sustancia.

3.6 Variables y operacionalización de variables.

VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICE	UNIDAD DE MEDIDA
Extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias <i>Tropaeolum majus L.</i>	% de rendimiento	cuantitativo	Razón	%	%
	% de humedad	cuantitativo	Razón	%	%
	% de solubilidad	Cualitativo	Nominal	Poco soluble Soluble Muy soluble	+ ++ +++
	Perfil fitoquímico	Cualitativo	Nominal	Negativo Baja Regular Abundante	- + ++ +++
	Concentraciones del extracto Hidroalcohólico	cuantitativo	Razón	5 10 25 75	% % % %
VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICE	UNIDAD DE MEDIDA
Efecto anti fúngico <i>in vitro</i> sobre <i>Cándida albicans</i> ATCC10231.	—	cuantitativo	Ordinal	Nula (-) Sensible (+) Muy sensible (++) Sumamente sensible (+++)	< 8 mm 8 - 14 mm 14 - 20mm > 20mm

3.7 Instrumentos de recolección de datos

Los cuadros constituidos por los halos de inhibición medidos a las 24 y 48 horas de incubación, con el Vernier o Pie de Rey, según su concentración.

3.8 Validación de los instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos fueron validados por juicio de expertos, conformado por 3 docentes de investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud, correspondiente a la especialidad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora. Véase anexo.

3.9 Procedimientos para la recolección de datos

- Se realizó la recepción de la cepa *Cándida albicans* ATCC 10231, importada por Genlab del Perú SAC.
- Se activó y preparo el agar Sabouraud.
- Se procedió a incubar por 24 horas a 36.5°C, después preparar el agar Sabouraud y distribuirlos en las 13 placas de Petri con un espesor de 5 mm.
- Después de que se solidifica el agar se procedió a realizar la técnica de sacabocados, que consiste en hacer las 6 perforaciones en el agar de forma proporcionalmente distribuidas
- Luego se procedió a verter los extractos hidroalcohólico del mastuerzo de indias en las concentraciones de 5%; 10%, 25% y 75%; control + y control –
- Se procede a incubar por 48 horas a 36.5°C,
- Después se procede a medir los halos de inhibición con ayuda del Vernier o Pie de rey para registrarlos en las tablas de mediciones.
- Se procede a registrar los resultados de sensibilidad en la ficha de registro

3.9.1. Materiales

a) Materiales de laboratorio

Material de vidrio

- 02 probetas
- 02 baguetas
- 02 pipetas de 1mL
- 06 frasco ambas de 100mL

- 02 frascos ámbar de 1000 mL
- 01 frasco ámbar
- 12 tubos de ensayo
- 13 placas Petri

Equipos e instrumentos

- Balanza analítica
- Estufa
- Refrigeradora
- Incubadora microbiológica
- Vernier
- Asa
- Gradillas
- Hisopo
- Cocina eléctrica
- Mechero
- Espátula de metal

Reactivos y solventes

- Ácido clorhídrico
- Ácido sulfúrico
- Tricloruro férrico
- Cintas de magnesio metálico (shinoda)
- Reactivo de dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Sonneschein
- Reactivo de Gelatina Salada
- Reactivo de Acetato De Plomo
- Agua Destilada
- Etanol 70°
- Metanol

- Isopropanol
- Cloroformo

Medio de cultivo

- Agar Sabouraud

Otros

- Papel Filtro
- Guantes Estéril
- Gorro Quirúrgica
- Mascarilla
- Etiquetas
- Plumón Indeleble
- Cámara Digital
- Tijera

3.10 Procedimiento experimental

Recolección de la muestra vegetal

Las hojas *Tropaeolum Majus L.* (Mastuerzo de indias) fueron recolectados en las áreas verdes del distrito de san juan de Lurigancho, provincia de lima, departamento de lima.

Identificación de la muestra vegetal

La identificación de la muestra vegetal de *Tropaeolum Majus L* mastuerzo de indias se realizó en el museo de historia natural de la UNMSM. Véase anexos.

3.10.1 Preparación de material vegetal

a) Selección de hojas

Se procedió a la selección de las hojas que estaban en buenas condiciones, separando las partes deterioradas y con hongos e insectos.

b) Lavado de las hojas

Luego de la selección se lavaron las hojas con agua destilada.

c) Secado de las hojas

Se procedió a extender las hojas en papel kraft para el secado a temperatura ambiente por 72 horas.

d) Molienda de las hojas

Para la molienda de las hojas desecadas, se utilizó molino de pulverizar.

3.10.2. Preparación del extracto seco hidroalcohólico

a) Se procedió el pesado de las hojas

b) Se utilizó 340g de hojas de *Tropaeolum Majus L* mastuerzo de indias y se colocaron en un frasco de vidrio color ámbar.

c) Luego se añadió 860 mL de etanol 70° se tapó el recipiente.

d) Se llevó a maceración por 7 días a temperatura ambiente, agitando 1-5 minutos, dos veces al día protegiendo de la luz y calor.

e) El macerado se filtró con papel filtro whatman n°40 (extracto hidroalcohólico) se evaporó en a temperatura controlada 37°C hasta obtener un extracto seco.

f) Se obtuvo 33,3g de concentrado de extracto seco, finalmente se guarda en un frasco color ámbar para su uso.

3.11 Procedimiento de análisis de rendimiento

- Para el porcentaje de rendimiento se pesaron 340 gramos de la especie vegetal seca y molida y se colocó a maceración con alcohol con agitación constante por un periodo de 7 días a temperatura ambiente y protegidos de la luz.
- Luego se filtró hasta agotamiento y el filtrado obtenido fue concentrado a sequedad para finalmente obtener el extracto hidroalcoholico seco.
- Todos los filtrados fueron mezclados, evaporados y se calculó el peso del extracto hidroalcoholico seco obtenido.
- El porcentaje de rendimiento del extracto se calculó mediante la siguiente formula :

$$\% . E = \frac{w_{\text{extracto seco}}}{w_{\text{planta seca y molida}}} \times 100\%$$

3.12 Procedimiento de análisis de humedad

- Se procedió al pesado de tres placas petri vacio la cual obtuvo su peso de cada placa A, B y C determinándose de esta manera la tara inicial.
- En la placa previamente tarada se colocó 2 gramos las hojas de mastuerzo de indias *tropaeolum majus L.*
- Se colocó las placas con muestras en la estufa a 50°C por un periodo de 12 horas.
- Se retira las placas A, B y C de la estufa y se procede a pesar cada placa.
- Así mismo se volvió a pesar a realizar el procedimiento a las 24 y 36 horas respectivamente. (Ver en tabla 4)

3.13 Análisis cualitativo de las hojas de *Tropaeolum Majus L.* mastuerzo de indias

3.13.1. Prueba de solubilidad

- **Procedimiento:** En 5 tubos de ensayo se colocaron 1mg de extracto vegetal, posteriormente se adicionó a cada tubo un solvente diferente a analizar y se procedió agitar hasta observar resultados.
- **Solventes:** se seleccionaron diferentes solventes que fueron ordenados según su polaridad: agua, metanol, etanol, isopropanol, cloroformo.

3.14. Marcha fitoquímico del extracto

a. Identificación de alcaloides

- **Reacción de dragendorff:** A 1 mL de extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum. majus L.* (mastuerzo de indias)
Se le agrego de III – V gotas de reactivo Dragendorff.
Se considera positivo al presentar color rojo o naranja.
- **Reacción de Mayer:** A 1 mL de extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* (mastuerzo de indias)
Se le agrego de III – V gotas Reactivo Mayer.
Se considera positivo al presentar coloración blanco o crema.
- **Reacción de Wagner:** A 1 mL de extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* (mastuerzo de indias)
Se le agrego de III – V gotas de Reactivo Wagner.
Se considera positivo al presentar color rojo o naranja.
- **Reacción de Sonneschein:** a 1 mL de extracto hidroalcohólico de *Troapeolum Majus L.* (mastuerzo de indias) se le agrego de III – V gotas de reactivo. Sonneschein.
Se considera positivo al presentar color naranja.

b. Identificación de flavonoides

- **Reacción de shinoda:** A 1 mL de extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* (mastuerzo de indias) se le agrego virutas de magnesio metálico seguido por 1 mL de HCL concentrado. Al terminar la reacción adicionar alcohol amílico (pentanol) y agitar.

Se considera positivo al presentar coloración:

- Flavonas: amarillo, naranja o rojo
- Flavonol o flavononol: rojo carmesí, rojo magenta.
- Flavanonas: rojo, magenta, violeta, azul.
- Isoflavonas :Amarillo
- Isoflavanonas, chalconas, auronas: incoloro

- **Reacción de HSO₄ concentrado:** tomar 1mL de extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* (mastuerzo de indias)

Se le agrego de II – III gotas de HSO₄ concentrado.

Se considera positivo al presentar coloración:

- Flavonas y flavonoles: amarillo intenso
- Flavanonas: anaranjado o guinda.
- Chalconas o auronas: rojo guinda o rojo azulado.

c. Identificación de compuestos fenólicos

- **Reacción de tricloruro férrico (FeCl₃):** a 1mL de extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* (mastuerzo de indias)

Se le agrego de III – V gotas de reactivo FeCl₃.

Se considera positivo al presentar color verde negra o azul.

- Verde: derivado de catecol
- Azul: derivado de pirogalol

d. Identificación de taninos

- **Reacción de gelatina salada:** a 1 mL de extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* (mastuerzo de indias)

Se le agrego de III – V gotas de reactivo Gelatina salada.

Se considera positivo al presentar precipitado blanco en forma de floculos.

- **Reacción de acetato de plomo (Pb (CH₃COO)₂):** a 1 mL de extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* (mastuerzo de indias) se le agrego de III – V gotas de reactivo de Pb (CH₃COO)₂.

Se considera positivo al presentar precipitado blanco o turbidez.

3.15 Actividad antimicótica del extracto seco hidroalcohólico de *tropaeolum majus L.*

Trece placas Petri estériles con medio enriquecido de agar Sabouraud-dextrosa fueron sembradas por extensión en placa con *Candida albicans* ATCC 1023.

Las placas sembradas fueron rotuladas y se marcaron 6 puntos equidistantes para usarse como guías de referencia para la formación de las excavaciones.

Se realizaron con bastante cuidado, y de manera uniforme, 5 excavaciones en el agar solidificado con la ayuda de un sacabocado estéril de 4mm de diámetro. De este modo, cada placa petri tuvo 5 excavaciones y una marca de guía restante en las cuales se agregaron lo siguiente:

- 100 uL de agua destilada estéril (control negativo).
- 100 uL de solución de extracto seco hidroalcohólico de *Tropaeolum majus* L. 5%, 10%, 25% y 75% p/v
- Un disco de antibiograma de Fluconazol de 25 ug sobre la marca de guía restante.

Luego, las placas se dejaron incubando a 37°C hasta las 48 horas. Durante ese periodo de tiempo se registraron, mediante la ayuda de un vernier, los diámetros (mm) de los halos de inhibición que se fueron formando a las 24 y 48 horas.

Finalmente, estos resultados se evaluaron mediante la “Escala de Duraffourd”; la cual es empleada para la determinación cualitativa del efecto *in vitro*. La Escala de Duraffourd categoriza los niveles de sensibilidad de acuerdo al tamaño del diámetro de los halos de inhibición tal como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 01: Escala de Duraffourd.

	Niveles de sensibilidad			
	Nula (-)	Sensible (+)	Muy Sensible (++)	Sumamente sensible (+++)
Diámetro de halo	<8mm	8-14 mm	14-20mm	> 20mm

Fuente: Duraffourd C.

3.16 Procesamiento y análisis de datos

Los datos obtenidos fueron procesados y evaluados según la Escala de Duraffourd C. 1983. Además, se realizó el Análisis de Varianza (ANOVA) de los datos para determinar si las diferencias encontradas con Duraffourd son estadísticamente significativas. El paquete estadístico empleado es el SPSS v25.0

4. RESULTADOS

4.1 Presentación de resultados

El presente trabajo de investigación de tipo cuasi-experimental, que tiene como finalidad determinar el efecto antifúngico *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*, frente a *Cándida albicans* ATCC 10231 La investigación, por el tipo de diseño, busca establecer de forma directa relaciones causales, es decir aportar indicios sobre las posibles causas de un fenómeno.

En el contexto de lo explicado, los resultados de la investigación se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 02: Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico *Tropaeolum Majus L.* Mastuerzo de indias.

Según formula:

$$\% \cdot E = \frac{w_{\text{extracto seco}}}{w_{\text{planta seca y molida}}} \times 100\%$$

	<i>Planta seca molida gramos</i>	<i>Extracto hidroalcohólico seco gramos</i>	<i>% extracción</i>
<i>Extracto hidroalcohólico</i>	340	33,3	9.79

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 02** se puede apreciar que el extracto hidroalcohólico seco y la especie vegetal de *Tropaeolum Majus L.* Mastuerzo de indias presenta un porcentaje de rendimiento de 9.79 %.

Tabla 03: Porcentaje de humedad de las hojas de *Tropaeolum Majus L.*

Placa petri	Peso en gramos de placa Petri	Peso en gramos de placa Petri + hojas humedad	Peso en gramos a las 12 horas.	Peso en gramos a las 24 horas.	Peso en gramos a las 36 horas	Peso en gramos de hoja seca	% humedad
A	37,83	39,83	38,26	38,25	38,25	1,58	79
B	48,37	50,37	48,77	48,75	48,75	1,62	81
C	45,71	47,71	46,19	46,15	46,14	1,57	78,5

Promedio: $(79,5 \pm 1,32) \%$

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 03**, evidencia que las hojas de *Tropaeolum Majus L.* mastuerzo de indias, tienen un % promedio de humedad de $(79,5 \pm 1,32)$.

Tabla 04: Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico *Tropaeolum Majus L.* Mastuerzo de indias

Solubles	Resultados
Agua (H ₂ O)	++
Metanol (CH ₃ OH)	++
Etanol (C ₂ H ₆ O)	+++
Isopropanol	+
Cloroformo	+

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda: (+) poco soluble; (++) soluble; (+++) muy soluble.

Los resultados de la **Tabla 04**, muestran que el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* mastuerzo de indias, es regularmente soluble en agua, muy soluble en reactivos de etanol y metanol poco soluble en reactivos de isopromanol y cloroformo.

Tabla 05: Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.*

Metabolitos secundarios	Reactivo	Resultados
Alcaloides	Dragendorf	+
	Mayer	-
	Wagner	+
	Sonneschein	-
Flavonoides	Shinoda (flavonas)	+++
	HSO4 (conc)	+++
Fenoles	FeCl3	+++
Taninos	Gelatina	++
	Acetato de plomo	++

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda: (-) Resultado negativo; (+) Presencia positiva de intensidad baja; (++) Presencia positiva de intensidad regular; (+++) Presencia positiva de intensidad abundante.

La **tabla 05**, brinda evidencia que el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* mastuerzo de indias, presenta abundantes metabolitos de tipo fenólico como los flavonoides, otros compuestos fenólicos, regular presencia de taninos. Por otra parte hay baja presencia de alcaloides.

Tabla 06: Determinación del efecto antifúngico *in vitro* basado en la medida los halos de inhibición según la escala de duraffourd C. 1983

Niveles de sensibilidad según la Escala de Duraffourd C. 1983	Concentración del extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias <i>Tropaeolum majus L.</i>				Grupos Control	
	G1	G2	G3	G4	G5 (Control +)	G6 (Control -)
	(5%)	(10%)	(25%)	(75%)	Fluconazol	Agua destilada
Nula (-) <8mm	7,8					0
Sensible (+) 8-14 mm		11,8			12,1	
Muy sensible (++) 14-20mm			14,7			
Sumamente sensible(+++) >20mm				20,5		

Fuente: Elaboración propia.

En la **Tabla 06** se observa que el crecimiento de *Candida albicans* se ve inhibido por el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* a partir de una concentración del 10 % y esta se incrementa hasta un 75% donde la inhibición del crecimiento de *C. albicans* es sumamente sensible (halo de inhibición mayor a 20 mm).

Cabe resaltar que la inhibición del crecimiento de *C. albicans* por parte del Fluconazol se equipara al obtenido por el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* al 10%.

4.2 Análisis estadístico del diámetro de los halos de inhibición entre los grupos de experimentación:

Los datos obtenidos de los halos de inhibición entre los distintos grupos de experimentación fueron analizados empleando modelos estadísticos de comparación (ANOVA). Los halos de inhibición registrados se muestran en los siguientes cuadros descriptivos:

Tabla 07: Datos descriptivos de los halos de inhibición registrados a las 24 horas de incubación.

Grupos de experimentación	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% IC		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	13	,000	,0000	,0000	,000	,000	,0	,0
Extracto 5%	13	8,30	,0862	,0239	8,25	8,36	8,2	8,4
Extracto 10%	13	12,39	,1188	,0329	12,32	12,46	12,2	12,6
Extracto 25%	13	15,37	,1166	,0323	15,30	15,44	15,2	15,6
Extracto 75%	13	21,33	,0961	,0266	21,28	21,39	21,2	21,5
Fluconazol	13	12,35	,1561	,0433	12,26	12,44	12,2	12,6
Total	78	11,62	6,57	,7440	10,14	13,11	,0	21,5

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 08: Datos descriptivos de los halos de inhibición registrados a las 48 horas de incubación.

Grupos de experimentación	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% IC		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	13	,000	,0000	,0000	,000	,000	,0	,0
Extracto 5%	13	7,900	,5132	,1423	7,590	8,21	6,2	8,1
Extracto 10%	13	11,877	,7507	,2082	11,423	12,33	9,4	12,3
Extracto 25%	13	14,823	,9731	,2699	14,235	15,41	11,6	15,3
Extracto 75%	13	20,692	1,2613	,3498	19,930	21,45	16,5	21,2
Fluconazol	13	12,077	,1301	,0361	11,998	12,15	11,9	12,3
Total	78	11,228	6,4171	,7266	9,781	12,67	,0	21,2

Fuente: Elaboración propia.

De los datos de las Tablas 07 y 08 se realizó una prueba comparativa de grupos empleando el modelo estadístico de ANOVA. Previamente, se realizaron pruebas estadísticas con el propósito de verificar que nuestros datos se distribuyen de manera normal y que las varianzas entre los grupos de experimentación son homogéneas (importantes para proceder con el ensayo ANOVA). Los resultados de tales análisis (Anexos 9.4 y 9.5) muestran que los datos obtenidos no se distribuyen de manera normal a las 24 h ($p < 0.05$) y ni tampoco a las 48 h ($p < 0.05$). Por otra parte, las varianzas de los datos no son homogéneas entre grupos a las 24 h ($p < 0.05$); pero si lo son a las 48 h ($p > 0.05$).

Con los resultados estadísticos previos obtenidos, se procedió a hacer el análisis estadístico de ANOVA sumado a una prueba confirmatoria de Kruskal Wallis.

Las hipótesis estadísticas planteadas para el ANOVA son las siguientes:

H_0 : Las medias muestrales de *los halos de inhibición* no difieren en los grupos de experimentación.

H_1 : Al menos la media de *los halos de inhibición* de un grupo de experimentación difiere de los demás grupos.

Tabla 09: Análisis de Varianza del diámetro de los halos inhibición a las 24 horas entre los grupos experimentales.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<i>Entre grupos</i>	3324,013	5	664,803	58046,203	,000
<i>Dentro de grupos</i>	,825	72	,011		
<i>Total</i>	3324,838	77			

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 09 se puede observar que el p-valor es menor que 0.05; por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna. En otras palabras, al menos la media del halo de inhibición de un grupo de experimentación es diferente del resto luego de 24 horas de incubación.

Tabla 10: Análisis de Varianza del diámetro de los halos inhibición a las 48 horas entre los grupos experimentales.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<i>Entre grupos</i>	3130,179	5	626,036	1110,801	,000
<i>Dentro de grupos</i>	40,578	72	,564		
<i>Total</i>	3170,758	77			

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 10 se puede observar que el p-valor es menor que 0.05; por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna. En otras palabras, al menos la

media del halo de inhibición de un grupo de experimentación es diferente del resto luego de 48 horas de incubación.

Como los datos no se distribuyen de manera normal, los resultados del ANOVA deberán ser comprobados con el estadístico de Kruskal-Wallis.

Las hipótesis estadísticas planteadas para K-W son las siguientes:

H₀: La distribución de los *mm* de los halos de inhibición es la misma entre los grupos de experimentación.

H₁: La distribución de los *mm* de los halos de inhibición no es la misma entre los grupos de experimentación.

Los resultados se observan en las Tablas 11 y 12.

Tabla 11: Prueba de Kruskal-Wallis del diámetro de los halos inhibición a las 24 horas entre los grupos experimentales.

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de mm de halo de inhibición a las 24 h es la misma entre las categorías de Etiquetas de los grupos de experimentación independientes	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,0

Tabla 12: Prueba de Kruskal Wallis del diámetro de los halos de inhibición a las 48 horas entre los grupos experimentales.

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de mm de halo de inhibición a las 48 h es la misma entre las categorías de Etiquetas de los grupos de experimentación independientes	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,0

Los resultados de las pruebas de Kruskal-Wallis muestran que el p-valor es menor de 0.05; tanto para las 24 horas, como para las 48 horas. Por lo tanto se

rechaza la hipótesis nula. Los resultados de K-W son concordantes con los resultados del ANOVA, de esta manera se concluye que los diámetros de los halos de inhibición son distintos estadísticamente entre los grupos de experimentación.

Para determinar las diferencias específicas entre los grupos de experimentación se realizaron pruebas *post-hoc* según el tipo de homogeneidad de las varianzas de los datos obtenidos.

Tabla 13: Prueba *post-hoc* de Games-Howell (para varianzas no homogéneas) del diámetro de los halos inhibición a las 24 horas entre los grupos experimentales.

Etiquetas de los grupos de experimentación	de	los de N	Subconjunto para alfa = 0.05					
			1	2	3	4	5	
<i>Blanco</i>		13	,000					
<i>Extracto 5%</i>		13		8,308				
<i>Fluconazol</i>		13			12,354			
<i>Games-Howell</i> <i>Extracto 10%</i>		13			12,392			
<i>Extracto 25%</i>		13				15,377		
<i>Extracto 75%</i>		13						21,338
<i>Sig.</i>			1,000	1,000	,941	1,000	1,000	1,000

Fuente: Elaboración propia.

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

La Tabla 13 muestra que los grupos experimentales se ordenaron en subconjuntos homogéneos de manera concordante con la escala de *Durafford* (Tabla 06).

El extracto de *Tropaeolum majus* L al 5% puede generar un halo de inhibición en promedio de 8.308 mm; este valor es el más bajo obtenido. Por otra parte, el extracto de *Tropaeolum majus* L al 75% generó el halo de inhibición más grande, en promedio de 21.338. Finalmente se deduce que el extracto de *Tropaeolum majus* L al 75% puede generar un halo de inhibición comparable estadísticamente al del Fluconazol.

Tabla 14: Prueba *post-hoc* de Tukey (para varianzas homogéneas) del diámetro de los halos inhibición a las 48 horas entre los grupos experimentales.

Etiquetas de los grupos de experimentación	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
<i>Blanco</i>	13	,000				
<i>Extracto 5%</i>	13		7,900			
<i>Extracto 10%</i>	13			11,877		
<i>Fluconazol</i>	13			12,077		
<i>Extracto 25%</i>	13				14,823	
<i>Extracto 75%</i>	13					20,692
<i>Sig.</i>		1,000	1,000	,984	1,000	1,000

Fuente: Elaboración propia.

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 13,000.

La Tabla 14 muestra que los grupos experimentales se ordenaron en subconjuntos homogéneos de manera concordante con la escala de Durafford (Tabla 06).

A las 48 horas de incubación, los resultados no difieren de los obtenidos a las 24 horas de incubación. Resaltar que el extracto de *Tropaeolum majus* L al 10% generó un promedio de halo de inhibición estadísticamente similar al del Fluconazol.

Cabe indicar que los resultados de las Tablas 13 y 14 muestran una relación proporcionalmente directa entre la concentración de extracto de *Tropaeolum majus* L y el tamaño de los mm del halo de inhibición obtenidos.

Por lo tanto, se concluye que los resultados obtenidos en la Tabla 05 tienen significancia estadística y que existe una relación directa entre la concentración de extracto de *Tropaeolum majus* L y su capacidad de disminuir el crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231.

5. DISCUSIÓN

En la actualidad, las infecciones fúngicas producidas por *Cándida albicans* (más del 50%) es considerada como uno de los patógenos más frecuentes causantes de este tipo de infecciones⁶. Los síntomas se manifiestan sólo cuando el crecimiento de *Cándida sp.*, es desmedido. Es muy raro que *Cándida sp.* Se trasmita de una persona a otra, a no ser por relaciones sexuales⁴.

Para el tratamiento de la candidiasis se han utilizado Fluconazol, itraconazol, voriconazol y caspofungina, sin embargo, en la actualidad no existe un esquema terapéutico definido; asimismo los fármacos disponibles para el tratamiento de las micosis dermatológicas sigue siendo escaso y debería incluirse tratamientos con nuevos antifúngicos alternativos frente a la candidiasis, y otras micosis.

En la medicina tradicional peruana, existe una gran variedad de recursos *etnobotánicos* con diversas propiedades terapéuticas, entre ellas las antimicrobianas, de las cuales se han realizado diversos estudios en especial sobre el efecto antifúngico de los extractos obtenidos de diversas plantas clasificadas como medicinales.

Motivo por el cual, en el presente estudio se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* del extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus* L. frente a *Candida albicans* ATCC10231.

Los resultados de nuestro estudio evidencian que el extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus* L., puede inhibir el crecimiento de *Cándida albicans* ATCC10231 de manera sensible al 10%; de manera muy sensible al 25% y de manera sumamente sensible al 75% (Tabla 06).

Tales hallazgos son comparables con otros estudios que evaluaron la actividad antifúngica del *Tropaeolum majus* L en otros microorganismos, como por ejemplo frente a *Sporothrix schenckii* (Aguilar R, Juep W. 2018)¹⁰; a *Trichophyton mentagrophytes* (Aguilar *et al* 2017; Bezada *et al* 2016)^{11, 14}; incluso frente a *Penicillium* sp. (Bastidas, Llacua 2016)¹³.

Incluso hay estudios que muestran que *Tropaeolum majus* L posee actividad antibacteriana como lo reportado por Tenorio, Estrada (2017) donde se muestra que es útil frente a infecciones urinarias ocasionadas por *E. coli*¹².

Cabe destacar que *Bastidas, Llacua (2016)* asoció el efecto antifúngico de su extracto metanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L con la alta concentración de compuestos fenólicos (688.21 mg Eq. Acido Gálico/mL de extracto)¹³. Así mismo, *Bazylko A, et al (2014)*, asociaron el efecto antimicrobiano de su extracto acuoso con la presencia de esteres del ácido cinámico y flavonoides¹⁵. Tales resultados concuerdan con la elevada presencia de flavonoides, y compuestos fenólicos, determinados en el tamizaje fitoquímico de nuestro extracto hidroalcoholico de *Tropaeolum majus* L (Tabla 04) y la actividad antifúngica frente a *C. albicans* ATCC10231 determinada en nuestro estudio.

Finalmente resaltar que el estudio realizado por *Jurca T, et al. (2018)*, además de demostrar el efecto antibacteriano y antifúngico del extracto hidroalcohólico 70% de *Tropaeolum majus* L, también evidenciaron la capacidad de incrementar la expresión de las proteínas p53 y Bcl-2 en células endoteliales expuestas a estrés hiperosmótico. Tomando en cuenta que la proteína p53 es conocida como una proteína supresora de tumores y las proteínas Bcl-2 son importantes en el proceso de apoptosis (muerte celular programada); el extracto de *Tropaeolum majus* L también podría tener acción protectora tisular durante un proceso infeccioso.

En conclusión, en el marco de previamente explicado, podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus* L., tiene efecto antifúngico *in vitro* a las concentraciones del 10%, 25% y 75%, sobre *Cándida albicans* ATCC10231.

6. CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus L.* ha demostrado poseer actividad antifúngica *in vitro* frente a cultivos de *Candida albicans* ATCC10231
- El extracto hidroalcohólico seco y la especie de *Tropaeolum Majus L.* tiene un porcentaje de rendimiento de 9,79%.
- La especie *Tropaeolum majus L.* tiene un porcentaje de humedad del $79.5 \pm 1.3\%$.
- El extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus L.* presenta amplia solubilidad en solventes orgánicos de mediana polaridad, como el metanol y etanol. Sin embargo, presenta baja solubilidad en solventes de mediana a baja polaridad, como el cloroformo.
- El extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus L.* presenta una elevada proporción de compuestos polifenólicos, sobretodo flavonoides, y una baja proporción de alcaloides.
- El crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231 puede ser inhibido *in vitro* de manera sensible, muy sensible y sumamente sensible a las concentraciones de 10, 25 y 75% del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus L* respectivamente.

7. RECOMENDACIONES

- Realizar otros estudios para comprobar la eficacia del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum Majus L.* mastuerzo de indias, en el tratamiento de alguna enfermedad micótica en animales y posteriormente en humanos, para de esta manera contribuir al control y tratamiento de las enfermedades micóticas con énfasis en las causadas por la *Cándida albicans* que es una de las más prevalentes y que afecta a toda la población.
- La Universidad debe ampliar y continuar con estudios sobre plantas con propiedades terapéuticas y en lo posible fortalecer y mejorar el equipamiento en biotecnología para llevar a cabo más estudios en la misma línea de investigación.
- Constituir grupos de investigación vinculados a la línea de plantas con propiedades terapéuticas, para estudiar los recursos naturales en la Región Lima y en otras regiones del Perú, como parte de la responsabilidad social de la Universidad.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Odds FC. *Candida y candidiasis*, 2nd ed. London: BailliereTindall, 1988. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19892057780>.
2. Bonifaz A. Candidiasis. En: *Micología Médica Básica*. 5ª edición. México: Méndez Editores, 2015. Capítulo 23. Disponible: https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?legacysectionid=Bonifaz5_c23
3. Macola S. Cándida. En: Llop, A, Valdés-Dapeno, M, Zuazo JL, editores. *Microbiología y parasitología médicas*. Vol I. Habana: Editorial Ciencias Médicas, 2001; capítulo 48. pp: 501-7. Disponible: <https://libreriadespertar.files.wordpress.com/2014/07/microbiologc3ada-y-parasitologc3ada-mc3a9dicas-tomo-i1.pdf>
4. McGinnis MR, Tilton RC. Levaduras. En: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF, Weissfeld M, Tilton RC, editors. *Microbiología clínica y patógena*. 2nd ed. St. Louis: Mosby - Year Book Inc. 1994; pp: 615-24.
5. Fah S, Wong B. Estado actual de los métodos no de cultivo para el diagnóstico de infecciones fúngicas invasivas. *Clinical Microbiology Reviews*, July 2002; p.465-84. <https://cmr.asm.org/content/cmr/15/3/465.full.pdf>
6. Moragues MD, Omaetxebarria MJ, Elguezabal N, Bikandi J, Quindós G. Diferenciación serológica de infecciones por *Candida dubliniensis* y *Candida albicans* inducidas experimentalmente. *J Clin Microbiol* 2001; 39:2999-3001.
7. Blanco M. Rendimiento de biomasa y aceite esencial de quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown en respuesta a las prácticas agronómicas, y sus propiedades farmacológicas. [Tesis para optar el Grado de Magíster]. Argentina: Facultad de ciencias exactas, Universidad Nacional de la Plata; [Tesis en Internet]; 2014.
8. Lagos E. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial *Thymus vulgaris* L. “tomillo” frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 causante de gingivitis. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Perú: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; [Tesis en Internet]; 2012.
9. Sánchez C, Bustamante R. Determinación de la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial de *Satureja nubigena* “Pachachamcua” frente a *Sporothrix*

- schenckii. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Perú: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; [Tesis en Internet]; 2015.
10. Aguilar Saavedra, Rosa Leida, Juep Cahuaza, Wilma. “Determinación de la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L., (mastuerzo) frente a *Sporothrix schenckii*”. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Perú: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; [Tesis en Internet]; 2018.
 11. Aguilar D, Avalos S, Plasencia P, Marquillo I, Ayala M. Efecto del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” sobre micosis inducida por trichophyton mentagrophytes en *Rattus norvegicus*. Rev. Acta Med Perú. [Internet]. 2017; 34 (3): 196 – 202.
 12. Tenorio Pizarro, Anthony Edie; Estrada Romero, Jean Antony. “Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L., “mastuerzo” sobre *Escherichia coli* aislada de pacientes con Infecciones del Tracto Urinario”. [Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo]. Perú: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; [Tesis en Internet]; 2017.
 13. Bastidas Clemente, Yuly; Llacua Chávez, Lousset Fabiola “Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de las flores de la especie vegetal mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) frente al crecimiento del microorganismo *Penicillium* sp”. [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú; [Tesis en Internet]; 2016.
 14. Bezada S, Ramírez F, Ruíz J, Guevara J, Carcelén F. Evaluación del extracto hidroalcohólico de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) en formulación crema para el tratamiento de la dermatomicosis causada por *Trichophyton mentagrophytes* en el cuy (*Cavia porcellus*). Rev. Per. Quím. Ing. Quím. [Internet]. 2016 May; 19 (1): 55 – 61.
 15. Bazytko A. Inhibition of ROS production, photoprotection, and total phenolic, flavonoids and ascorbic acid content of fresh herb juice and extracts from the leaves and flowers of *Tropaeolum majus*. Industrial Crops and Products. Volume 55, April 2014, Pages 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.056>

16. Gomes, C., Lourenço, E. L. B., Liuti, É. B., Duque, A. O., Nihi, F., Lourenço, A. C., Dalsenter, P. R. Evaluation of subchronic toxicity of the hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012. 142(2), 481–487. doi:10.1016/j.jep.2012.05.023.
17. Jurca T, et al. The effect of *tropaeolum majus* l. on bacterial infections and in vitro. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society* · September 2018. DOI: 10.26402/jpp.2018.3.06
18. Sherif, N. H. Influence of *Tropaeolum Majus* Leaves Extract in Ameliorating Damage Induced by Gamma Radiation in Rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* 2014, (54), 109–116. doi: 10.12816/0002437.
19. LOURENÇO, E. L. B.; PRANDO, T. B. L.; MUNIZ, D.; MUNHOZ, C. J.; DALSENTER, P. R.; VELASQUEZ, L. G.; GASPARTTO-JUNIOR, A. Atividade de *Tropaeolum majus* l. sobre a mobilização e migração leucocitária em modelo de bolsão inflamatório. *Arq.Ciênc. Saúde UNIPAR, Umuarama*, v. 15, n. 3, p.243-256, set./dez. 2011. <http://revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/4089/2541>.
20. Cabezas G. Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) en ratones (*Mus musculus*). Tesis para optar el Título Profesional de Bioquímico Farmacéutico]. Ecuador: Escuela Superior politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias; [Tesis en Internet]; 2014.
21. Mira J. “Eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre cepa certificada de *Staphylococcus aureus*”. [Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario Zootecnista]. Ecuador: Universidad técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias; [Tesis en Internet]; 2017.
22. Bastidas Y, Llacua L. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de las flores de la especie vegetal mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) frente al crecimiento del microorganismo *Penicillium* sp. [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú; [Tesis en Internet]; 2016.

23. Huanquis L, León M. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de las hojas y flores de la especie vegetal mastuerzo (*Tropaeolum majus L.*) frente al crecimiento de microorganismos (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*). [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú; [Tesis en Internet]; 2015.
24. Calil J, Ferreira C, Damo L, Lima R, Gaube C, Franca I, et al. Traditional usages, botany, phytochemistry, biological activity and toxicology of *Tropaeolum majus L.* - A review. Rev. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. [Internet]. 2016 Feb; 15 (4): 264 – 273.
25. Vilata, J. Micosis cutánea. Editorial medica panamericana. Madrid 2005.
26. Vircell. Microbiologist. [Internet]. España: [Citado 2018 Mar 8]. Disponible: <https://www.vircell.com/enfermedad/27-candida-albicans/>.
27. CCM-Salud. Candida albicans. [Internet]. España: [Citado 2017 Ene 25]. Disponible: <https://salud.ccm.net/faq/7819-que-es-candida-albicans>.
28. Redsa. Extractos hidroalcoholicos [Internet]. México: [Citado 2019 May 20]. Disponible: <https://redsa.com.mx/extractos-hidroalcoholicos.html>.
29. NIH. Instituto Nacional del Cáncer [Internet]. EEUU. Disponible: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/antifungico>.
30. labdemicrobiologia.wixsite.com/scientist-site/blank-ch2nw.
31. Britanialab.com. (2019). [online] Available at: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2971216486e.pdf [Accessed 15 May 2018].
32. Anon, (2019). *in vitro*. [online] Available at: https://es.wikipedia.org/wiki/In_vitro. [Accessed 14 May 2018].
33. Anon, (2019). [online] Available at: <https://es.wikipedia.org/wiki/Cepa>. [Accessed 13 may. 2018].
34. ECURED. Pie de Rey [Internet]. Cuba: [Citado 2019 Oct 5]. Disponible: https://www.ecured.cu/Pie_de_rey.
35. Kidshealth. Candidiasis [Internet]. EEUU: [Citado 2019 Set 1]. Disponible: <https://kidshealth.org/es/parents/thrush-esp.html>.
36. [Internet]. Britanialab.com. 2019 [cited 15 May 2018]. Available from: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2971216486e.pdf

ANEXOS

9.1 Matriz de consistencia

Título: Efecto antifúngico *in vitro* del extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias *Tropaeolum majus L.*, sobre cepas de *Cándida albicans* ATCC 10231.

Planteamiento del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología																
<p>Problema General ¿El extracto hidroalcohólico del mastuerzo de indias tendrá efecto antifúngico <i>in vitro</i> frente a candidas albicans ATCC 10231?</p> <p>Problemas Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ¿Qué porcentaje de rendimiento, humedad y perfil de solubilidad tendrá el extracto hidroalcohólico del mastuerzo de indias <i>Tropaeolum Majus L.</i> ? ¿Qué metabolitos secundarios tendrá el extracto hidroalcohólico del mastuerzo de indias <i>tropaeolum majus L.</i> ? 	<p>Objetivo General Determinar el efecto antifúngico <i>in vitro</i> a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias <i>Tropaeolum majus L.</i> frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar el porcentaje de rendimiento, humedad y de solubilidad del extracto hidroalcohólico del mastuerzo de indias de <i>tropaeolum majus L.</i> 	<p>Hipótesis General El extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias <i>Tropaeolum majus L.</i>, tendría la capacidad de inhibir el crecimiento <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Hipótesis específicas:</p> <ul style="list-style-type: none"> El extracto hidroalcohólico del mastuerzo de indias <i>tropaeolum majus L.</i> tendría un porcentaje de rendimiento, de humedad por debajo del 50% y es soluble en solventes 	<p>Variable Dependiente Efecto anti fúngico <i>in vitro</i> sobre <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Variable Independiente Extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias <i>Tropaeolum majus L.</i></p>	<p>Tipo de investigación. La investigación es de tipo aplicada.</p> <p>Nivel de investigación El nivel de investigación del presente estudio es explicativo.</p> <p>Diseño de la investigación El diseño de la investigación es experimental. Diseño grafico</p> <table border="0"> <tr> <td>R G1</td> <td>O1</td> <td>X1</td> <td>O2</td> </tr> <tr> <td>R G2</td> <td>O3</td> <td>X2</td> <td>O4</td> </tr> <tr> <td>R G3</td> <td>O5</td> <td>X3</td> <td>O6</td> </tr> <tr> <td>R G4</td> <td>O7</td> <td>X4</td> <td>O8</td> </tr> </table>	R G1	O1	X1	O2	R G2	O3	X2	O4	R G3	O5	X3	O6	R G4	O7	X4	O8
R G1	O1	X1	O2																	
R G2	O3	X2	O4																	
R G3	O5	X3	O6																	
R G4	O7	X4	O8																	

<ul style="list-style-type: none"> • ¿Tendrá efecto antifúngico in vitro el extracto hidroalcoholico del mastuerzo de indias <i>tropaeolum majus L.</i> frente a <i>candidas albicans</i> ATCC 10231 al 5,10, 25 y 75%? 	<ul style="list-style-type: none"> • Identificar los principales metabolitos secundarios del extracto hidroalcoholico del mastuerzo de indias <i>Troapeolum majus L.</i> • Determinar el efecto antifúngico in vitro del extracto hidroalcoholico del mastuerzo de indias <i>tropaeolum majus l.</i> al 5, 10, 25 y 75% frente a <i>candidas albicans</i> ATCC10231. 	<p>hidroalcoholico.</p> <ul style="list-style-type: none"> • El extracto hidroalcoholico del mastuerzo de indias <i>tropaeolum majus L.</i> podría contener flavonoides como quercetina, isoquercetina, luteína, kaempferol, zeaxantina, ácido clorogenico, taninos, acido oxálico, espilantol. • El extracto hidroalcoholico del mastuerzo de indias <i>tropaeolum majus L.</i> tendría efecto antifúngico in vitro frente a <i>candidas albicans</i> ATCC 10231, al menos en uno de los porcentaje establecidos 5,10.25 y 75%. 		
--	--	--	--	--

9.2 Instrumento de recolección de datos

Medición del efecto anti fúngico *in vitro* de los halos de inhibición en el cultivo, después de 48 horas de incubación.

Cultivos de <i>Cándida albicans</i> ATCC10231	Concentración del extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de indias <i>Tropaeolum majus L.</i>				Grupos Control	
	G1 (5%)	G2 (10%)	G3 (25%)	G4 (75%)	G5 (Control -) Agua destilada	G6 (Control +) Fluconazol
Medición placa 1: Diámetro del halo de inhibición (mm)						
Medición placa 2: Diámetro del halo de inhibición (mm)						
Medición placa 3: Diámetro del halo de inhibición (mm)						
Medición placa 4: Diámetro del halo de inhibición (mm)						
Suma Total por grupos						

9.3 validación del Instrumento

ANEXO N° 1

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	()	(✓)
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	()	(✓)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	()	()	(✓)
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	()	()	(✓)
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	()	(✓)
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	()	()	(✓)

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

Ninguno.

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

Ninguno.

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?

Ninguno.

Fecha: *19-10-2018*

Validado por: *Mg. Victor Humberto Chero Pacheco.*

Firma: *[Firma manuscrita]*

ANEXO N° 1

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100				
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	(X)
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	(X)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	()	(X)
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	()	(X)
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	(X)
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	()	(X)

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

.....

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

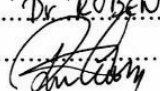
.....

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....

Fecha: 10/10/2018

Validado por: Dr. RUBEN E. CUEVA MESTANZA

Firma: 

ANEXO N° 1

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	() () () () (X) ()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	() () () () (X) ()
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	() () () () (X) ()
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	() () () () (X) ()
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	() () () () (X) ()
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	() () () () (X) ()

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

.....
.....

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

.....
.....

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....
.....

Fecha: 05 NOV. 2018

Validado por: DR. RAYONAL JESUS SEMINARIO UNZUETA

Firma: 

9.4 Prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad de los mm de Halo de inhibición registrados durante el estudio.

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra		
		mm de halo de inhibición a las 24 h
N		78
Parámetros normales ^{a,b}	Media	11,628
	Desv. Desviación	6,5711
Máximas diferencias extremas	Absoluto	,201
	Positivo	,128
	Negativo	-,201
Estadístico de prueba		,201
Sig. asintótica(bilateral)		,000 ^c
<i>a. La distribución de prueba es normal.</i>		
<i>b. Se calcula a partir de datos.</i>		
<i>c. Corrección de significación de Lilliefors.</i>		

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra		
		mm de halo de inhibición a las 48 h
N		78
Parámetros normales ^{a,b}	Media	11,228
	Desv. Desviación	6,4171
Máximas diferencias extremas	Absoluto	,183
	Positivo	,127
	Negativo	-,183
Estadístico de prueba		,183
Sig. asintótica(bilateral)		,000 ^c
<i>a. La distribución de prueba es normal.</i>		
<i>b. Se calcula a partir de datos.</i>		
<i>c. Corrección de significación de Lilliefors.</i>		

9.5 Prueba de Levene para determinar la homogeneidad de varianzas de los mm de halos de inhibición registrados entre grupos de experimentación.

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
mm de halo de inhibición a las 24 h	Se basa en la media	10,311	5	72	,000
	Se basa en la mediana	4,879	5	72	,001
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	4,879	5	47,191	,001
	Se basa en la media recortada	10,130	5	72	,000

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
mm de halo de inhibición a las 48 h	Se basa en la media	1,870	5	72	,110
	Se basa en la mediana	,540	5	72	,745
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,540	5	35,138	,744
	Se basa en la media recortada	,788	5	72	,562

9.6 Certificación botánica de la especie. Mastuerzo de indias

(*Tropaeolum Majus L.*)



VICERRECTORADO DE
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

CONSTANCIA N° 027-USM-2019

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

La muestra vegetal (planta completa) recibida de **Colque Canchanya Angel José y Rojas Mauricio, Jaquelin Angelica**, estudiantes de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada y clasificada como: ***Tropaeolum majus L.***, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: GERANIALES

FAMILIA: TROPAOLACEAE

GENERO: Tropaeolum

ESPECIE: *Tropaeolum majus L.*

Nombre vulgar: “Mastuerzo de Indias”

Determinado por: Dra. Joaquina Albán Castillo

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 03 de enero de 2019



Mag. ASUNCIÓN A. CANO-ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

9.7 Certificado De Análisis Del Microorganismo *Cándida Albicans* ATCC 10231



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Candida albicans</i> Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-965** Reference Number: ATCC® 10231™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/11/30 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L. Negen Release Date: 2018/12/7
Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamyospore production: positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p>	
<p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p>	
<p>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p>	
<p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p>	
 <p>ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT # 2655.02</p>	(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.
	(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.
 <p>ACCREDITED TESTING CERT #2655.01</p>	

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Candida albicans
 Sample Description: 0443
 Sample ID: 443-965
 Sample Creation Date/Time: 2018-12-03T08:06:34.027KLN
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
H9 (+++)(A)	443-965	Candida albicans	2.04

Comments:

N/A

9.8 Imágenes

FOTOGRAFIA N° 01: RECOLECCION DE LA ESPECIE MASTUERZO DE INDIA (*TROPAEOLUM MAJUS L.*)



**FOTOGRAFIA N°02: SELECCIÓN, LAVADO Y SECADO DE LAS HOJAS
DEL (MASTUERZO DE INDIAS) *TROPAEOLUM MAJUS L.***



FOTOGRAFIA N°03: FRAGMENTO DE LA DROGA VEGETAL SECA A UN TAMAÑO DE PARTICULAS HOMOGENEAS



FOTOGRAFIA N° 04: PESADO DE LA MUESTRA VEGETAL



FOTOGRAFIA N° 05:MACERADO DURANTE 7 DIAS



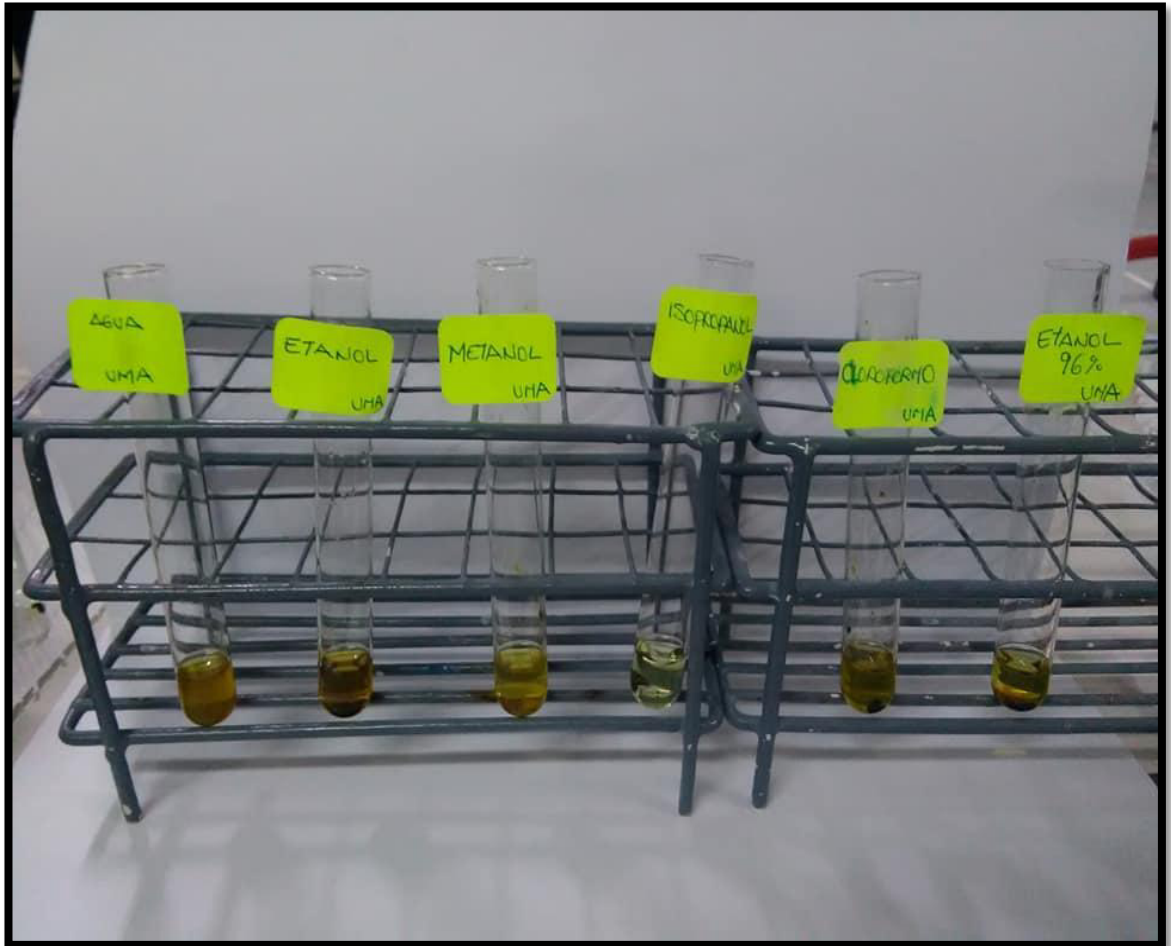
**FOTOGRAFIA N°06: FILTRACION AL VACIO DEL EXTRACTO
HIDROALCOLICO DE *TROPAEOLUM MAJUS L.***



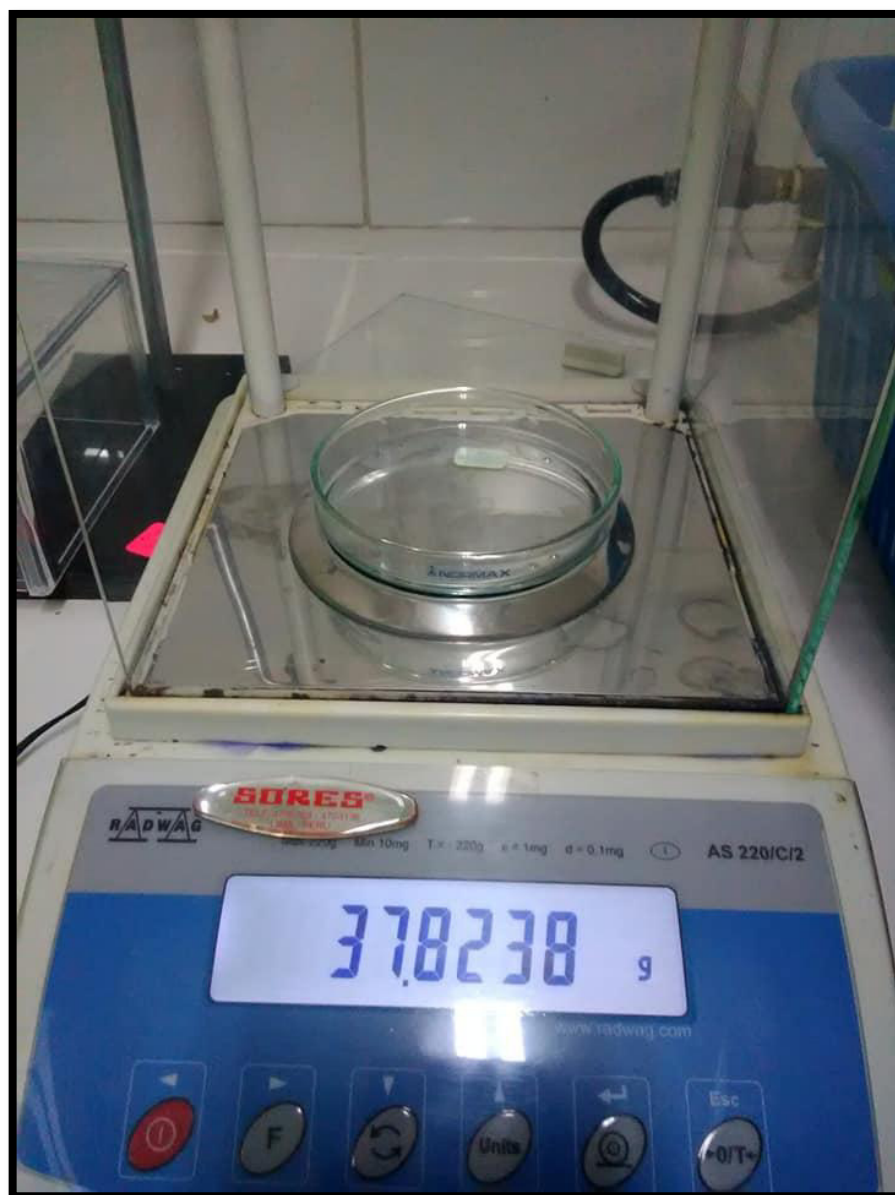
FOTOGRAFIA N° 07: OBTENCION DEL EXTRACTO SECO

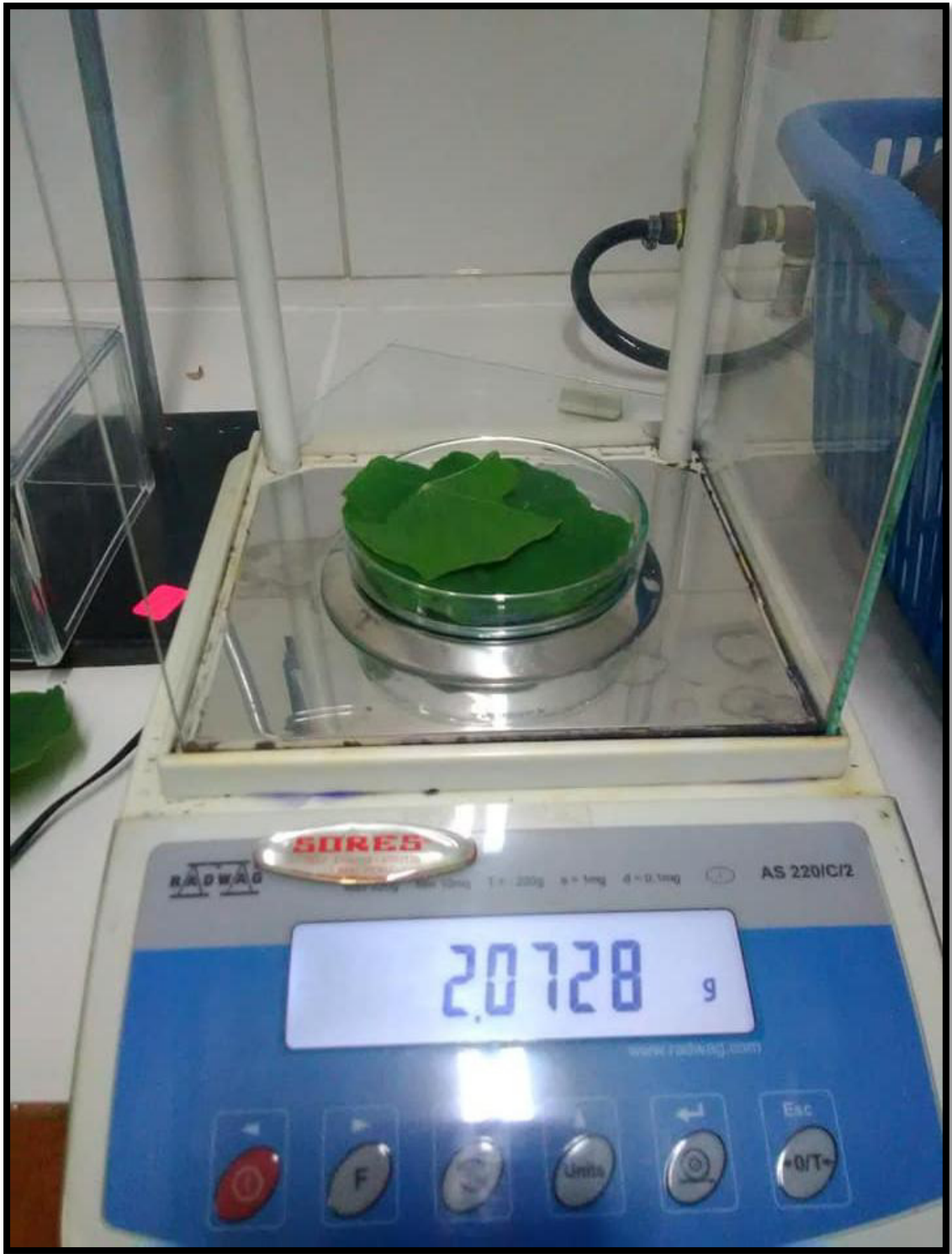


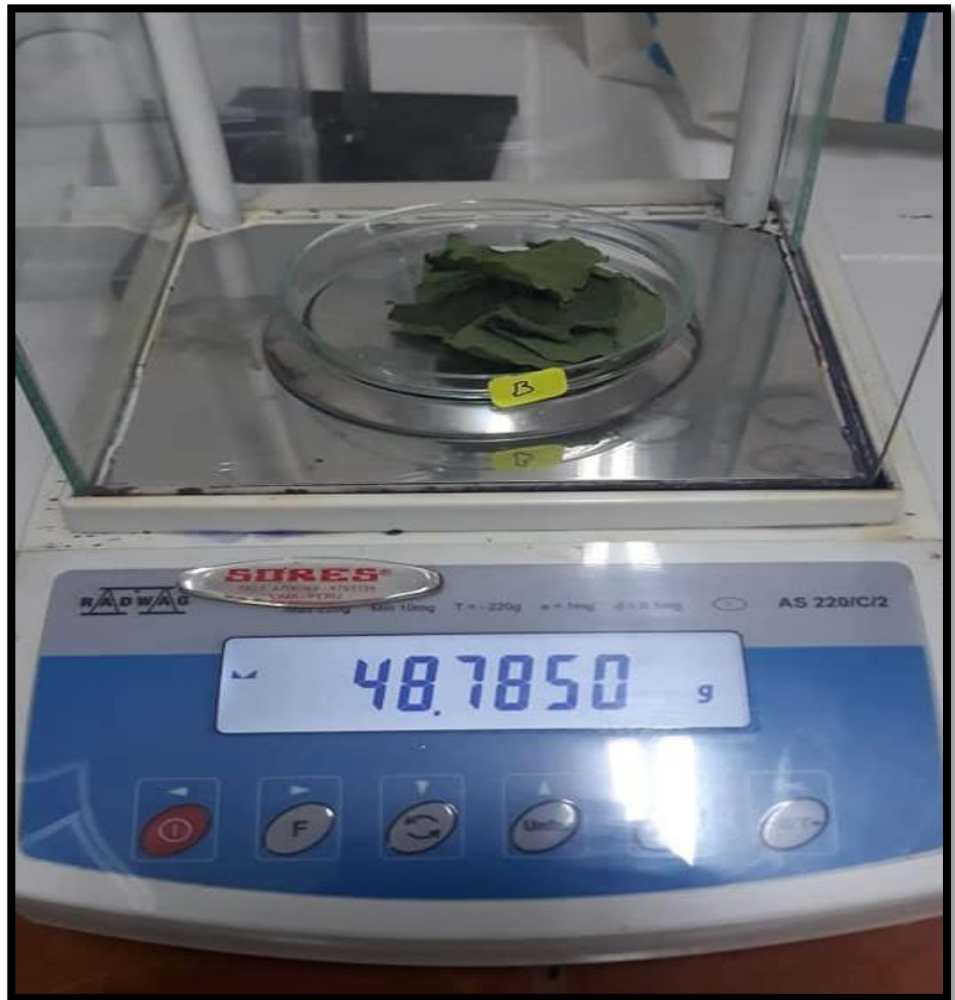
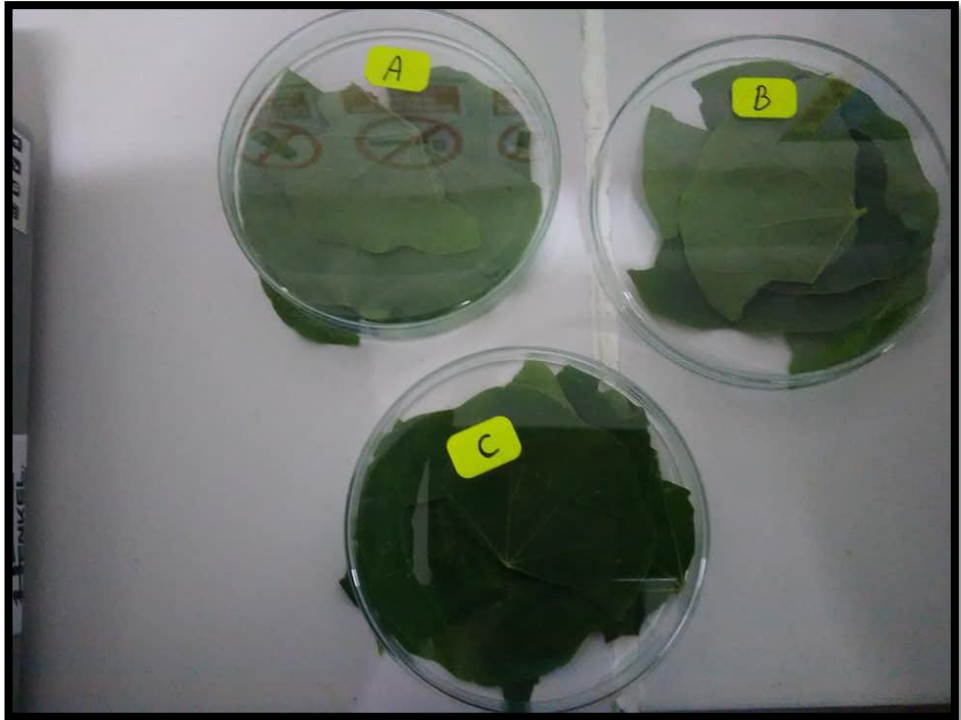
**FOTOGRAFIA N° 08: PRUEBA DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO
HIDROALCOLICO SECO DE *TROPAEOLUM MAJUS L.***



FOTOGRAFIA N° 09: PORCENTAJE DE HUMEDAD





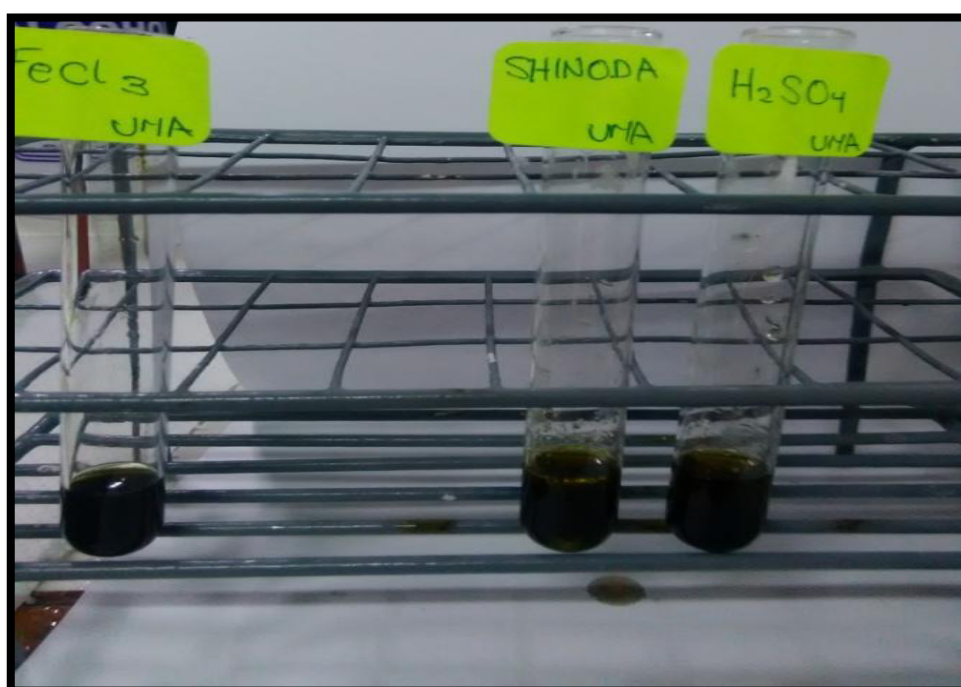




FOTOGRAFIA N°10: TAMIZAJE FITOQUIMICO – IDENTIFICACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS



Identificación de alcaloides



Identificación flavonoides y compuestos fenolicos



Identificación de taninos

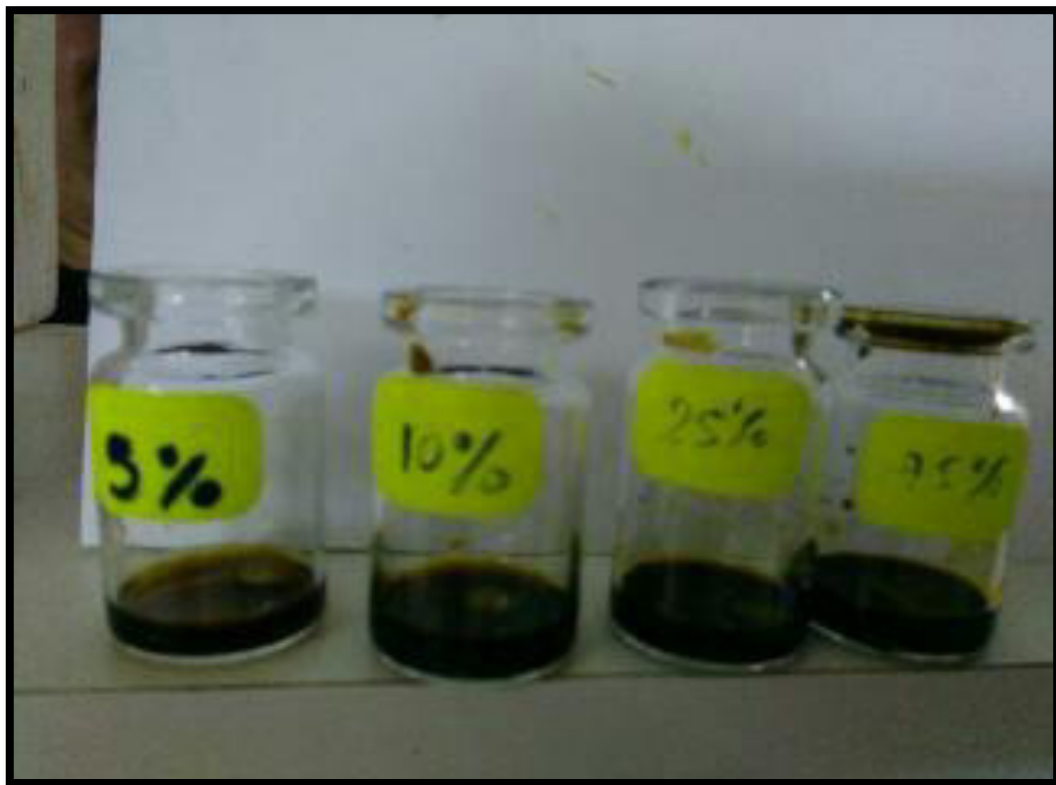
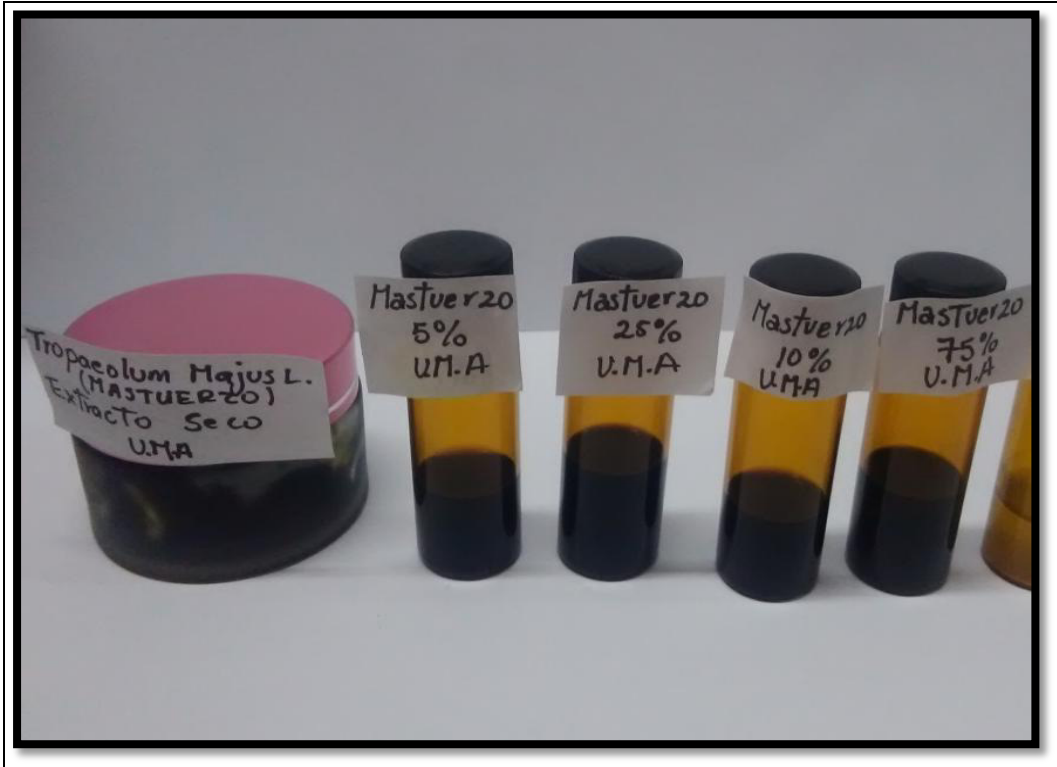


Resultado final de las reacciones de tamizaje fitoquímico

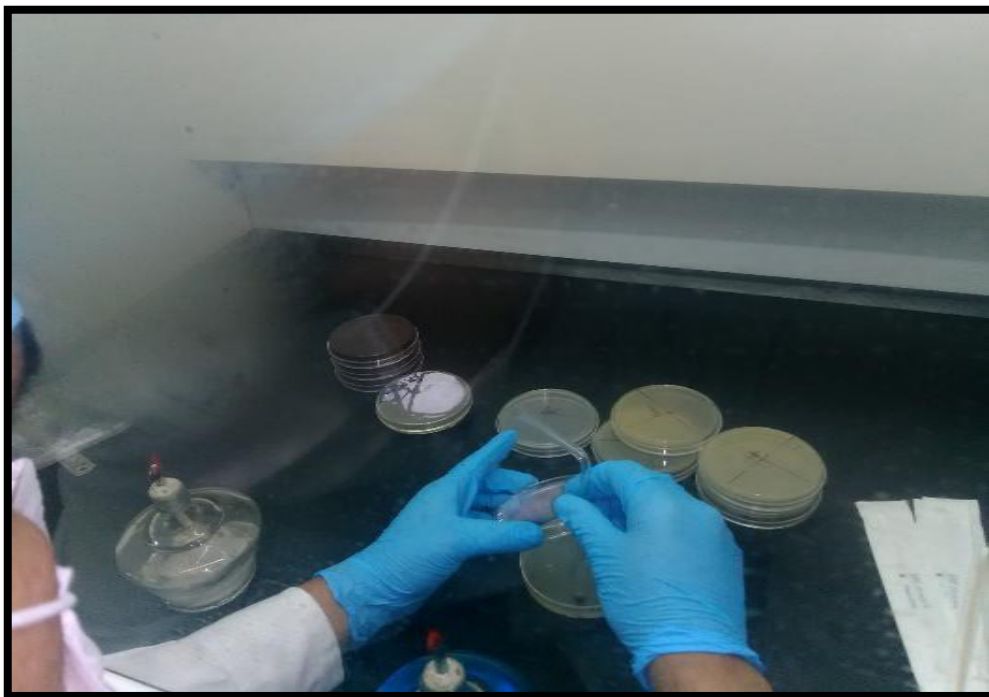
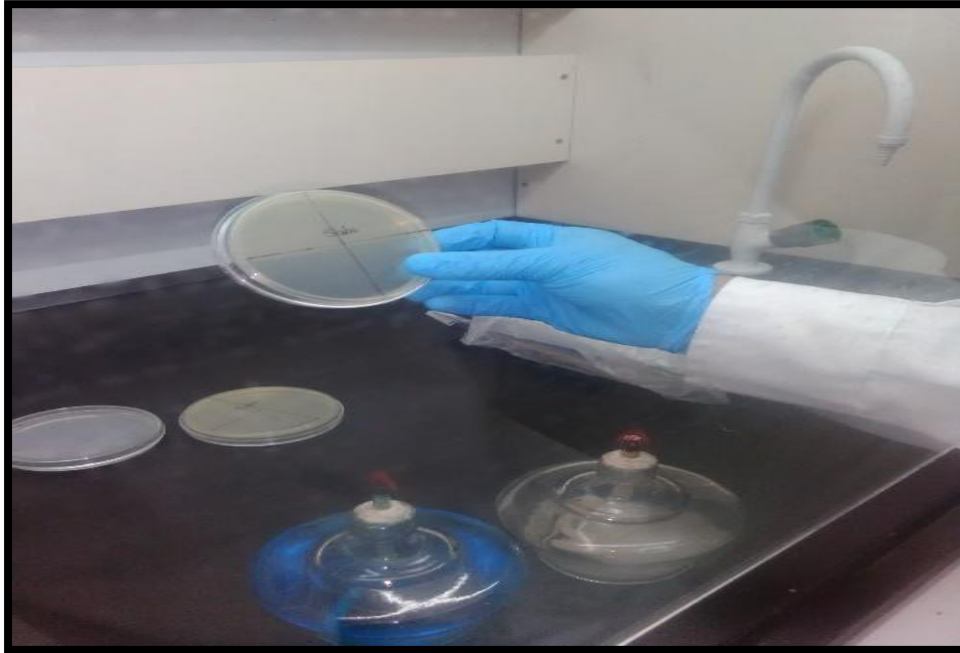
FOTOGRAFIA N°11:PREPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES

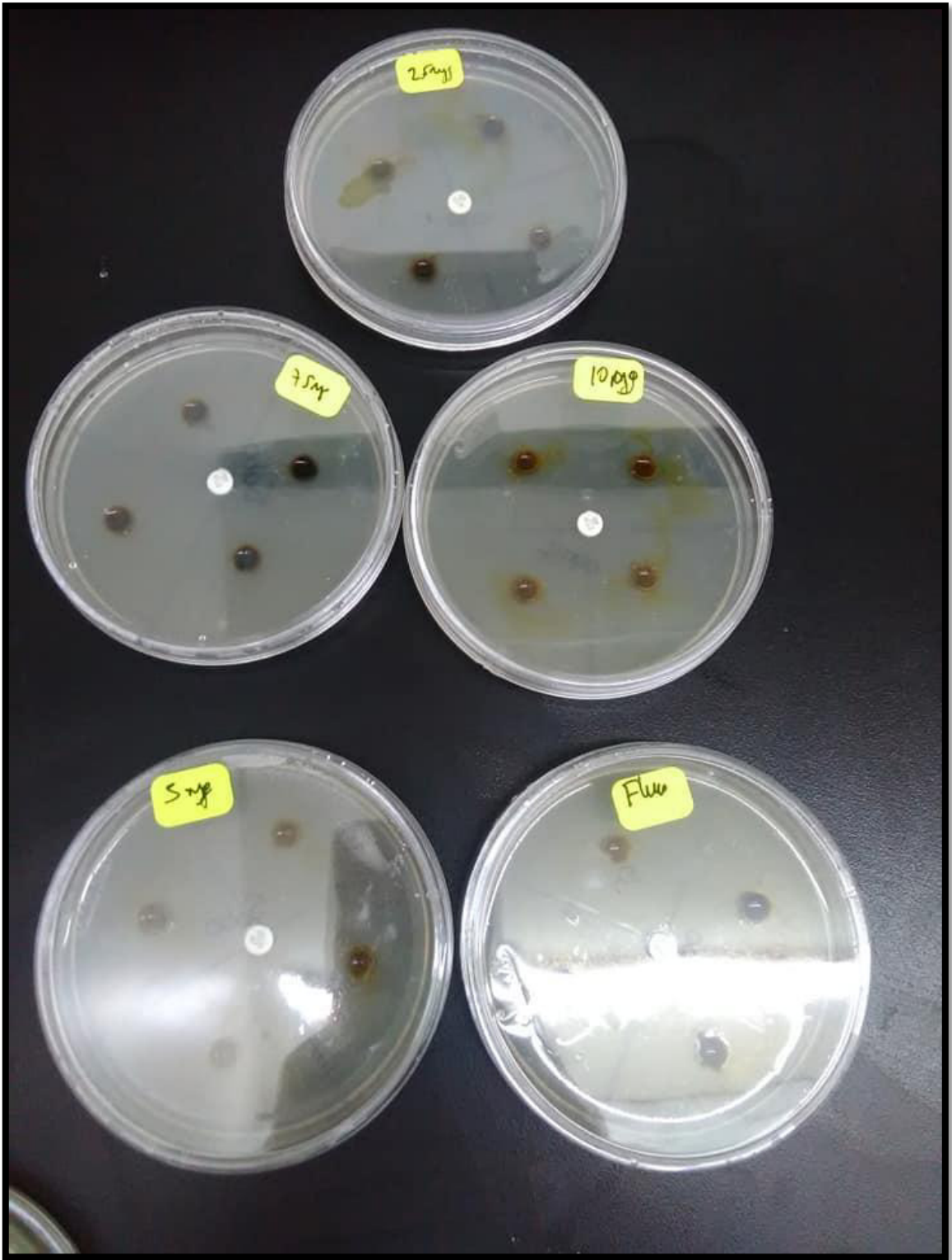




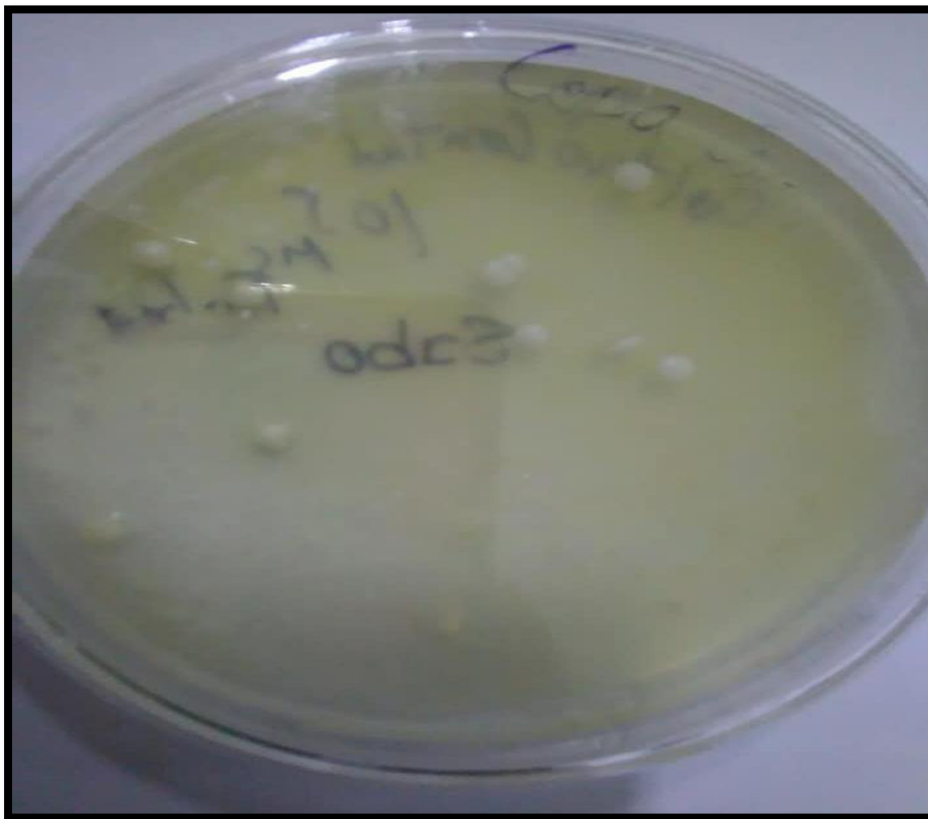
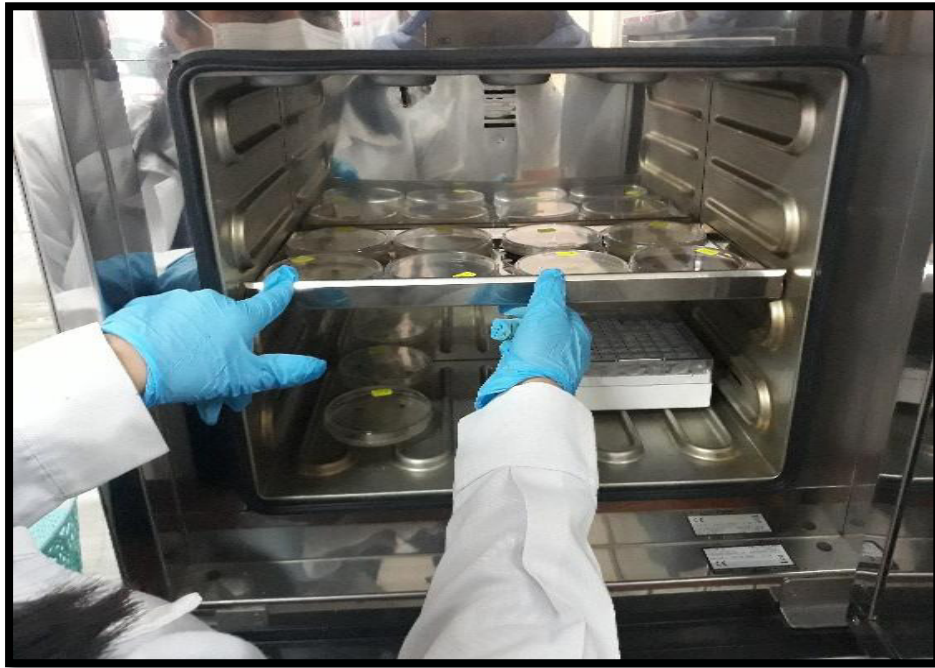


**FOTOGRAFIA N° 12: CULTIVO DE LA CEPA DE CANDIDA ALBICANS
ATCC 10231**

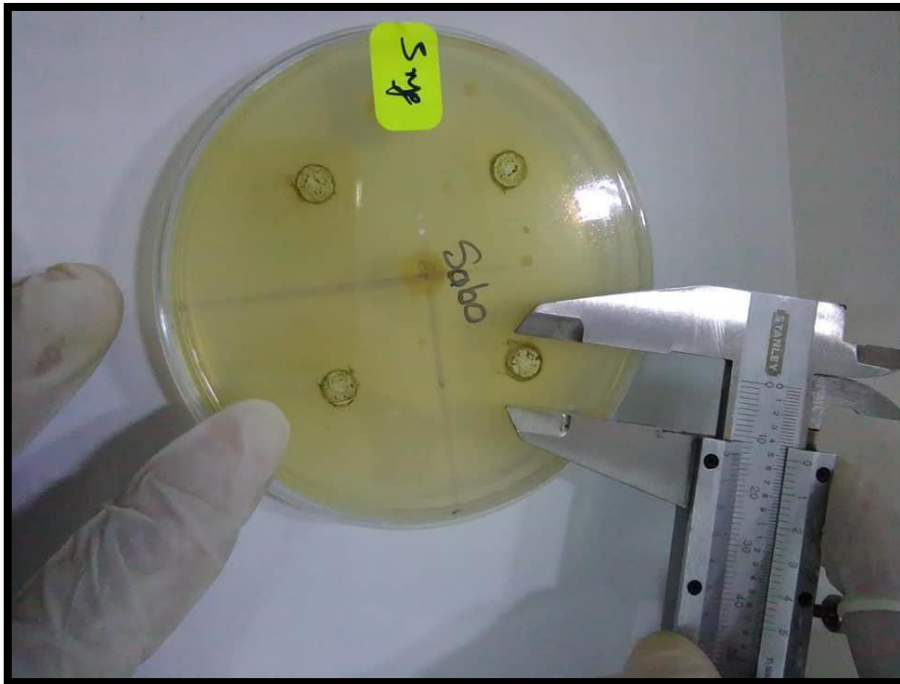


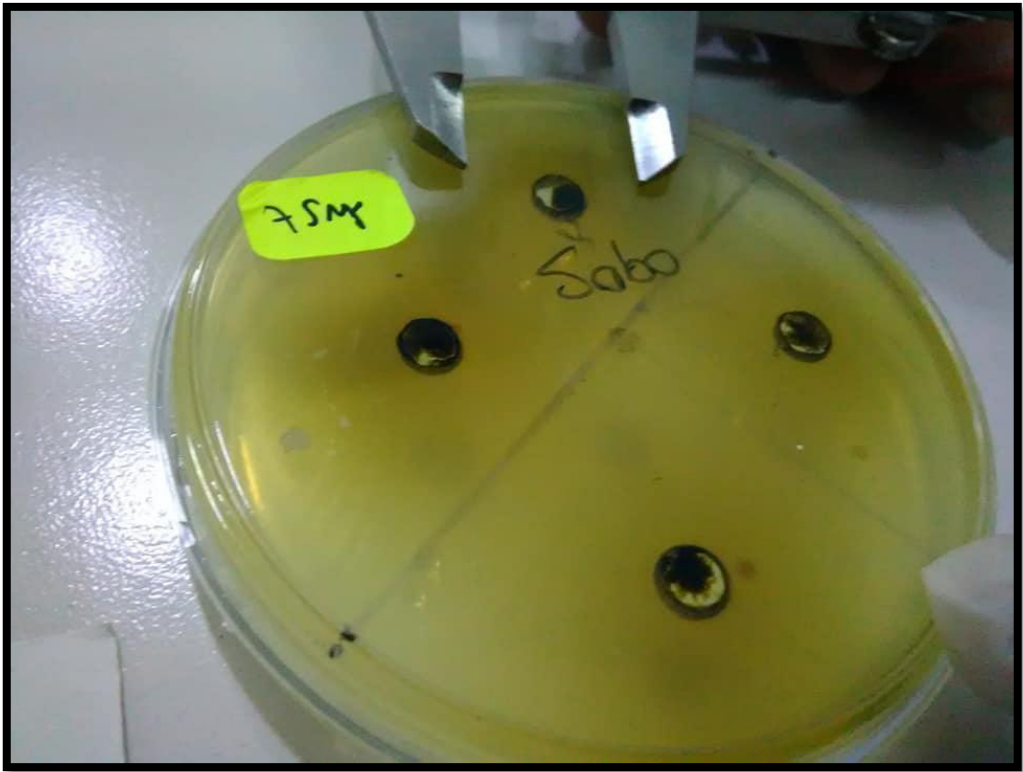


FOTOGRAFIA N°13: INCUBACION DE LAS PLACAS



FOTOGRAFIA N° 14: MEDICION DE LOS HALOS DE INHIBACION





FOTOGRAFIA N°14: RESULTADO DE HALOS DE INHIBICION

