



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
"Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro"



ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA Y COMPOSICION QUIMICA DE LOS FRUTOS
DE *Solanum quitoense* EN CEPAS DE REFERENCIA INTERNACIONAL

www.bdigital.ula.ve

Tesista:

Br. Oriana R. Echeverría H.

CI: 26.467.728.

Tutora:

Prof. Johanna C Hernández M.

Mérida, Mayo de 2023

DEDICATORIA

En primer lugar a dios, cuya bondad y amor no tienen fin, gracias padre por darme la fortaleza para seguir adelante aún en las adversidades, por llenarme de fe y fortaleza en los momentos que más lo necesitaba y permitirme salir victoriosa de cada prueba que se me presento en el camino a esta meta. A mí, por la constancia, dedicación y responsabilidad no solo en la realización de este trabajo, sino también durante toda la carrera, me felicito por haber continuado adelante poniéndole todo mi amor y empeño a este sueño, incluso en los días más difíciles.

A mis abuelos, que aunque no están físicamente conmigo, sé que me acompañan desde el cielo y me siguen llenando con sus bendiciones, gracias por su amor y sus enseñanzas, siempre serán el mejor regalo que dios me dio.

A mis padres, quienes me impulsan a ser mejor cada día y creyeron en mí en todo momento, sin su apoyo y sacrificio esta meta no hubiera sido posible. Gracias mamá por tu ardua lucha en el camino a convertir a tus hijas en mujeres de bien.

A mis hermanas, por ser mis compañeras fieles y por compartir conmigo tantas alegrías y tristezas y animarme a seguir mis sueños. Les agradezco por ser parte de mi vida y de este logro.

A mi tía Yasmeli Hernández, por su apoyo y ayuda incondicional y por haber sido luz en los momentos de oscuridad, este logro también es gracias a ti.

Oriana Rachel Echeverría Hernandez

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, por ser mi segunda casa durante mis años de aprendizaje y ser parte crucial de mi crecimiento y formación como profesional.

Al instituto de investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”, a sus profesores y personal que lo conforma, gracias por abrirme las puertas y estar siempre en la disponibilidad de ayudar a los estudiantes. Mi agradecimiento especial a mi tutora Dra. Johanna Hernandez por confiar en mí y en este proyecto y a mis queridas profesoras Dra. Alida Pérez y Dra. Ysbelia Obregón, gracias por haberme recibido con los brazos abiertos y haber sido pilares fundamentales en la realización de esta investigación.

A los amigos y futuros colegas que me regaló la vida universitaria, agradezco haber tenido el privilegio de compartir junto a ustedes esta hermosa etapa de la cual me llevo recuerdos inolvidables. A todos les deseo el mayor de los éxitos en el camino que emprenden y aquí siempre tendrán una amiga.

A Luis Martinez, por su apoyo, motivación y amor aún en la distancia, que dios bendiga y guie siempre tus sueños.

Oriana Rachel Echeverria Hernandez

INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE CONTENIDO	v
INDICE DE ESQUEMAS	viii
INDICE DE FIGURAS	ix
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	4
Planteamiento del Problema.....	4
Justificación e Importancia de la Investigación.....	5
Objetivos de la Investigación	8
Objetivo General	8
Objetivos Específicos	8
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	9
Alcances de la Investigación	9
Limitaciones de la Investigación.....	9
CAPITULO II	11
MARCO TEÓRICO	11
Trabajos Previos.....	11
Antecedentes Históricos	15
Bases Teóricas.....	17
Familia Solanaceae	17
Género <i>Solanum</i>	20
<i>Solanum quitoense</i>	23
Productos Naturales	28
Extractos Vegetales	34
Análisis Fitoquímico	37
Hongos.....	40
Métodos de Sensibilidad Antimicrobiana.....	47
Definición de Operacional de Términos.....	48
Operacionalización de las Variables.....	49

INDICE DE CONTENIDO (CONTINUACIÓN)

Sistema de Hipótesis	53
CAPITULO III	54
MARCO METODOLÓGICO	54
Tipo de Investigación.....	54
Diseño de Investigación	54
Población y Muestra	55
Unidad de investigación	55
Selección del tamaño de la muestra	55
Sistema de Variables.....	56
Instrumento de Recolección de Datos.....	56
Procedimiento de la Investigación	57
Recolección y transporte del material vegetal	57
Obtención de los Extractos Vegetales.....	61
Análisis Fitoquímico Preliminar	61
Evaluación de la Actividad Antifúngica de los Extractos	64
Diseño de Análisis	66
CAPITULO IV.....	67
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	67
Resultados.....	67
Análisis fitoquímico Preliminar.....	68
Evaluación de la Actividad antifúngica	73
Discusiones de resultados.....	75
CAPITULO V.....	79
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	79
Conclusiones.....	79
Recomendaciones.....	80
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS	81

INDICE DE TABLAS

TABLA N°	DESCRIPCION	PAG.
1	Clasificación taxonómica de <i>Solanum quitoense</i>	23
2	Composición fisicoquímica de <i>Solanum quitoense</i>	26
3	Operalización de la variable dependiente: Actividad Antifúngica de los Frutos de <i>Solanum quitoense</i>	50
4	Operalización de la variable independiente: Composición Química de los Frutos de <i>Solanum quitoense</i>	51
5	Determinación del porcentaje del rendimiento de los Extractos de la Corteza y Pulpa de los Frutos de <i>Solanum quitoense</i>	68
6	Resultados del tamizaje fitoquímico de los Extractos obtenidos de la Corteza y Pulpa de los Frutos de <i>Solanum quitoense</i>	69
7	Reporte ilustrado de los resultados positivos del tamizaje fitoquímico de los Extractos de la Corteza y Pulpa de los Frutos de <i>Solanum quitoense</i>	70
8	Resultados obtenidos en la determinación de la actividad antifungica de los Extractos de la Corteza y Pulpa de los Frutos de <i>Solanum quitoense</i>	73
9	Reporte ilustrado de los resultados obtenidos en la determinación de la Actividad Antifungica de los Extractos de la Corteza y Pulpa de los Frutos de <i>Solanum quitoense</i>	75

INDICE DE ESQUEMAS

ESQUEMA N°	DESCRIPCION	PAG.
1	Procedimiento empleado para la obtención de los extractos.....	58
2	Tamizaje fitoquímico de los extractos de <i>Solanum quitoense</i>	59
3	Procedimiento para el análisis de la actividad antifúngica de los extractos.....	60

www.bdigital.ula.ve

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	DESCRIPCION	PAG.
1	Hojas y flores de algunas especies de la familia Solanaceae.....	18
2	Aspectos botánicos de especies del género <i>Solanum</i> ...	20
3	Algunos compuestos aislados en el género <i>Solanum</i> ...	22
4	Hojas y frutos de la especie <i>Solanum quitoense</i>	24
5	Algunos compuestos aislados de la especie <i>Solanum quitoense</i>	26
6	Estructura química del Indol (Alcaloide).....	30
7	Estructura química de una Saponina.....	31
8	Estructura química del Isopreno (Terpeno).....	31
9	Estructura química de un Flavonoide.....	32
10	Estructura química de un Tanino Condensado.....	33
11	Estructura química del Estigmasterol (Triterpeno).....	34



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Productos Naturales



ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA Y COMPOSICION QUIMICA DE LOS FRUTOS DE *Solanum quitoense* EN CEPAS DE REFERENCIA INTERNACIONAL

Tesista:

Br. Oriana R. Echeverría H.

Tutora:

Prof. Johanna C Hernández M.

Resumen

Solanum quitoense es una planta originaria de los bosques húmedos subtropicales de la cordillera de Los Andes y sus frutos de sabor exótico se caracterizan por ser ricos en compuestos bioactivos tanto en la pulpa como en sus subproductos. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue confirmar la relación entre la actividad antifúngica y la composición química de los frutos de *Solanum quitoense* en cepas de *Candida* de referencia internacional. Los extractos fueron obtenidos a partir de la corteza y la pulpa de los frutos de la especie en estudio, empleando solventes de distintas polaridades como: hexano y etanol, a estos se les realizó el análisis fitoquímico preliminar cualitativamente mediante el tamizaje fitoquímico identificando compuestos como: alcaloides, triterpenos, esteroides, taninos, flavonoides y quinonas. Posteriormente, se les determinó la actividad antifúngica frente a cepas de *Candida* de referencia internacional a través del método de difusión de discos en agar (Kirby-Bauer) empleando concentraciones de 10 mg/mL de cada extracto, pudiendo observar que estos no presentan actividad frente a *Candida albicans* y *Candida krusei* a las concentraciones empleadas.

Palabras clave: *Solanum quitoense*, Actividad antifúngica, Extractos vegetales, Tamizaje fitoquímico, *Candida* sp.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas representan un problema crítico para la salud y son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. La aparición de resistencia de los microorganismos a algunos antibióticos sintéticos, junto con la toxicidad durante el tratamiento prolongado, hace que sea necesario continuar la búsqueda de nuevas sustancias antimicrobianas, y en el caso de los hongos, antifúngicos en particular (Wen y cols., 2011). En la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas, los metabolitos secundarios presentes en especies vegetales juegan un papel muy importante en la relación planta-patógeno permitiendo su defensa frente a este último, lo cual ha hecho necesario el avance en el estudio y detección de la actividad biológica en plantas (Gregorí, 2005).

En cuanto a esta propiedad, se entiende por actividad antifúngica o antimicótica a la capacidad que posee una sustancia de producir alteraciones celulares en los hongos, lo cual causa el cese del crecimiento o su muerte, facilitando la acción del sistema inmune. En la síntesis de estas sustancias es fundamental tener en cuenta la relación entre su estructura y su función, pues sobre la base de ello se garantiza la muerte del hongo sin afectar a su hospedero (Gregorí, 2005).

La determinación de la efectividad de un agente antifúngico se lleva a cabo por medio de pruebas de susceptibilidad. El Instituto de estándares para el laboratorio clínico (CLSI) ha estandarizado 2 métodos para determinar la sensibilidad a los antifúngicos, los cuales son: el método de microdilución en caldo y el método de difusión en agar (Méndez, García y Martín, 2019). Este último también conocido como método de Kirby-Bauer hoy en día es ampliamente utilizado y aceptado como uno de los métodos más rápidos y

económicos para medir la sensibilidad que presentan los microorganismos hacia cierta sustancia (Ingraham e Ingraham, 1998).

Por otra parte los extractos de plantas constan de una combinación de elementos que mediante procesos químicos generan metabolitos secundarios que actúan como componentes bioactivos (Mosquera, Echeverry y Osorio, 2009). Estos metabolitos secundarios son identificados en extractos de productos naturales mediante el tamizaje fitoquímico a través de reacciones y análisis químicos bien descritos en la literatura (Castillo, Cajas, Montoya y García, 2022).

Por consiguiente, la especie en estudio *Solanum quitoense*, también conocido como lulo o naranjilla, pertenece a la familia Solanaceae, es cultivada en las regiones subtropicales de bosques húmedos situados a lo largo de la cordillera de los Andes en países como Ecuador, Colombia y Perú, además de países de América central como Guatemala y Costa Rica (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 2007). Su consumo los últimos años ha aumentado debido a los atractivos sabores y un amplio valor nutricional con la presencia de vitaminas y minerales que lo han llevado a nivel industrial en la elaboración de varios productos incluyendo los medicinales (Forero, Orrego, Grant y Osorio, 2014). En relación a sus propiedades este género presenta gran riqueza y diversidad de propiedades farmacológicas entre ellas, actividad citotóxica, anticancerígena, antiinflamatoria, antiulcerogénica, antimicrobiana y antioxidante (Costa, Leitao, Ramalho, Scotti, Rocha, Queiroz y Sctotti, 2018).

Este trabajo está sistematizado siguiendo las Normas de la Asociación Americana de Psicología (APA), estructurada en capítulos y organizados en títulos y Subtítulos que permitan comprender a mayor detalle la investigación realizada, la cual será de tipo confirmatoria en correspondencia con su objetivo

general: Confirmar la Relación de la actividad antifúngica y la composición química de los frutos de *Solanum quitoense* en cepas de referencia internacional, con el fin de aportar innovación en el campo de la medicina natural como alternativa terapéutica.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Las micosis son infecciones causadas por hongos que afectan a cualquier tejido; capaces de producir un cuadro clínico leve, moderado, grave o incluso mortal; que afectan a cualquier edad, sexo, condición socioeconómica y que comparten con las infecciones parasitarias, bacteriológicas y virales la misma importancia médica. Dentro de las micosis, las especies de *Candida* representan más del 80 % de todas las infecciones nosocomiales; en tanto que algunas especies de *Aspergillus* representan el 10-20 % restante. En base a esto, en los últimos años se ha observado un incremento importante en el número de pacientes con micosis que no responden a los tratamientos, siendo el uso inadecuado de los medicamentos para su manejo, el principal factor que contribuye a la resistencia en levaduras como *Candida* (López, Dzul, Lugo, Arias y Zavala, 2016).

La resistencia es un cambio de sensibilidad o susceptibilidad al antifúngico que puede medirse *in vitro* por métodos de laboratorio apropiados (Cárdenas, Martín, Martín y Pacheco, 2017). Los mecanismos de resistencia antifúngica se clasifican en dos categorías, resistencia microbiológica y resistencia clínica. La resistencia microbiológica se define como el crecimiento del microorganismo a dosis normales del antifúngico, sin embargo, éste puede ser inhibido a una concentración más alta. La resistencia clínica se define como el crecimiento del microorganismo a pesar de la administración de un agente antifúngico lo que se asocia con una alta probabilidad de falla terapéutica. En otras palabras, el patógeno no se puede inhibir a dosificaciones normales, pero

sí a concentraciones más altas, las cuales podrían ser no seguras para el paciente (López, Dzul, Lugo, Arias y Zavala, 2016).

Debido a las grandes tasas de resistencias a antimicóticos, se han realizado muchas investigaciones para desarrollar medicamentos naturales a base de extractos vegetales para combatir esta problemática, y así obtener una mejor eficacia con los medicamentos de origen natural frente a los medicamentos actuales que provocan resistencia (Borja, 2019). En base a esto se deriva la siguiente interrogante: ¿Cuál es la relación entre la actividad antifúngica y la composición química de los frutos de *Solanum quitoense* en cepas de referencia internacional?

Justificación e Importancia de la Investigación

www.bdigital.ula.ve

Históricamente el hombre siempre ha optado por el uso medicinal de las plantas para tratar diversas patologías, tanto así que actualmente muchos de los fármacos contienen principios activos de origen vegetal que son irremplazables; por consiguiente las plantas son una fuente invaluable de nuevas moléculas biológicamente activas que producen diversos metabolitos secundarios, muchos de los cuales presentan actividad antifúngica, estas propiedades están dadas por su composición química, al poseer compuestos tales como: flavonoides, fenoles, glicósidos de fenoles, saponinas, etc (Grayer y Harborne, 1994).

Así mismo, en los últimos años se ha incrementado la incidencia de enfermedades causadas por hongos (micosis) en todo el mundo, provocando afecciones tanto dérmicas como sistémicas en pacientes inmunocomprometidos por diversas causas como el SIDA, la quimioterapia en pacientes con cáncer, las neutropenias y los receptores de transplantes

sometidos a terapia con inmunosupresores, además del uso frecuente de procedimientos invasores como la nutrición parenteral y la diálisis, y por el tratamiento prolongado con antibióticos de amplio espectro y glucocorticoides. Este papel cada vez más importante de los hongos dentro de las enfermedades infecciosas humanas ha ejercido una fuerte influencia sobre la investigación y el desarrollo de nuevos y variados fármacos, con un mayor espectro de acción y menor toxicidad que los actuales (Mesa, Bueno y Betancur, 2004).

El aumento de las infecciones por hongos, principalmente causadas por especies del género *Candida*, unido a la resistencia que han venido presentando estos microorganismos a los antimicóticos, han conducido a la búsqueda de alternativas terapéuticas eficaces que puedan brindar más y mejores opciones a esta problemática de salud. Es por ello, que en el mundo se ha venido explorando y valorando el uso de los productos naturales como fuente de novedosos agentes antimicóticos, tanto así que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha informado que hoy en día aproximadamente el 80 % de la población mundial utiliza productos naturales con fines medicinales y que un gran número de medicamentos antimicrobianos existentes provienen de fuentes naturales (Mesa, Bueno y Betancur, 2004).

En consecuencia, en nuestra casa de Estudio la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes se han venido realizando diversas investigaciones en plantas, cuya finalidad ha sido dilucidar la presencia de componentes químicos que le confieran propiedades biológicas o farmacológicas que pudiesen ser aprovechadas por la comunidad. Por consiguiente, siendo *Solanum quitoense* un fruto perteneciente a una familia que ya ha sido estudiada anteriormente por presentar diversas propiedades medicinales, surge la necesidad de indagar en los fitoquímicos que presenta esta especie natural y su relación con la presencia de actividad antifúngica, lo

cual a su vez promueve estilos de vida más naturales y se relaciona con la creciente aceptación de la medicina tradicional como una forma alternativa de atención de la salud.

www.bdigital.ula.ve

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación entre la actividad antifúngica y la composición química de los frutos de *Solanum quitoense* en cepas de referencia internacional.

Objetivos Específicos

- ❖ Obtener los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* empleando solventes de distintas polaridades (hexano y etanol) mediante la técnica de extracción por reflujo.
- ❖ Determinar la composición química de los extractos previamente obtenidos de los frutos de *S. quitoense* a través de pruebas cualitativas de coloración y/o precipitación.
- ❖ Evaluar la actividad antifúngica de los extractos previamente obtenidos de los frutos de *S. quitoense* en cepas de *Candida* de referencia internacional mediante el método de difusión en agar con discos (Kirby-Bauer).

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

Según Hernández, Collado y Batista en 2010, los alcances de una investigación están relacionados al diseño de la misma, siendo este diseño quien determine las estrategias que se utilizaran para dar respuesta a la pregunta de investigación. En este sentido, la investigación tiene como alcance evaluar el efecto antifúngico de los extractos obtenidos a partir de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* frente a cepas de *Candida* de referencia internacional, permitiendo así generar una innovación sobre las propiedades farmacológicas de esta especie vegetal que pudiera ser aprovechada como alternativa terapéutica natural y que sirva además como base para apoyar futuras investigaciones.

Limitaciones de la Investigación

Según Arias (2006), las limitaciones son los obstáculos que eventualmente pudieran presentarse en el desarrollo del estudio y que escapan del control del investigador. En tal sentido las limitaciones de esta investigación, estarán dadas por la evaluación de los recursos metodológicos, de financiamiento y materiales; en base a esto, se puede mencionar la poca información encontrada como antecedente sobre el estudio de la actividad antifúngica en esta especie vegetal, la carencia de insumos para las pruebas de laboratorio en el Instituto de Investigación “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” y el Laboratorio de Micología, ambos pertenecientes a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, estas carencias son falta de

solventes para la obtención de los extractos a estudiar, el medio de cultivo para el microorganismo y los discos de antimicóticos utilizados como controles para evaluar la actividad antifúngica de los extractos.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Recientemente, en el año 2022 los autores Mendoza, Fuertes y Jahuirá realizaron un trabajo de investigación el cual titularon Análisis fitoquímico y actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* Pers. colectadas en la localidad Obraje-Perú. El cual tuvo como objetivo: analizar y determinar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* Pers. como procedimiento realizaron el análisis fitoquímico preliminar cualitativo mediante reacciones de color y precipitación, mientras que la actividad antifúngica fue investigada *in vitro* frente a microorganismos tales como: *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis* y *Trichophyton mentagrophytes* usando los métodos de difusión en pozo de agar y concentración mínima inhibitoria (CMI) a una concentración de 25 mg/mL. El análisis fitoquímico mostro la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, esteroides, alcaloides y saponinas, mientras que la actividad antifúngica arrojó halos de inhibición entre 23 y 26 mm para todas las cepas y los valores de CMI fueron de 125 µg/mL, 250 µg/mL y 125 µg/mL para *Candida albicans*, *A. brasiliensis* y *T. mentagrophytes*, respectivamente. Finalmente pudieron concluir que las hojas de *Solanum hispidum* Pers. contienen importantes metabolitos secundarios y tiene moderada actividad antifúngica.

Así mismo, Sana y cols (2022) realizaron una investigación titulada: Actividad antibacteriana y antifúngica de *Acacia modesta*, *Achyranthes aspera*

y *Solanum surattense* utilizadas en medicina popular, El objetivo de este estudio fue evaluar las propiedades antibacterianas y antifúngicas de los extractos de hojas de tres plantas (*Achyranthes aspara*, *Acacia modesta* y *Solanum surattense*) contra las especies *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Malassezia*. Los componentes bioactivos se extrajeron utilizando metanol y etanol al 70 % como disolventes y para evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica se empleó el método de difusión en pozos de agar probando los extractos crudos en tres concentraciones diferentes: 30, 40 y 50 mg/mL. En cuanto a los resultados obtenidos, los extractos etanólicos de *Achyranthes aspara* mostraron el mayor efecto inhibitor del crecimiento a una concentración de 50,0 mg/mL con una zona de inhibición de 13,2 mm frente a *E. coli*; mientras que los extractos etanólicos de hojas de *Solanum surattense* mostraron mayores efectos inhibidores a una concentración de 50,0 mg/ml con halos de inhibición de 12,5 mm contra *Salmonella* y 12,1 mm contra *Malassezia*. Respecto a los extractos de *Acacia modesta* estos no mostraron buenos resultados contra ninguna cepa bacteriana ni fúngica en comparación con las otras dos plantas. Por lo tanto con los halos de inhibición experimentalmente obtenidos, los autores pudieron deducir que los extractos vegetales estudiados mostraron actividad antimicrobiana contra las cepas de ensayo por lo que pueden utilizarse en la formulación de nuevos fármacos contra cepas bacterianas y fúngicas.

De igual modo, Ferrer y cols (2021) en su trabajo de investigación titulado: Estudio fitoquímico preliminar de *Solanum crinitum* Lam (Familia Solanaceae) y análisis de su actividad microbiológica, cuyo objetivo principal fue: Describir los compuestos esteroides y las actividades microbiológicas de *Solanum crinitum* Lam. El procedimiento que emplearon para ello fue obtener los extractos mediante el uso de los métodos de maceración y decocción de sus tallos y frutos con etanol; mientras que para el estudio fitoquímico emplearon

las técnicas de cromatografía de capa fina y cromatografía en columna y el análisis de la actividad microbiológica, se llevó a cabo por medio del método de difusión en disco o método de Kirby-Bauer modificado con una concentración de 30 mg/mL del extracto frente a cepas de referencia internacional de microorganismos tales como: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Candida albicans*, como control positivo para bacterias se utilizaron Ceftazidima® de 10 mg y como control negativo el solvente etanol concentrado. Los resultados obtenidos en las pruebas de metabolitos revelaron la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos condensados, saponinas, triterpenos, esteroides y glicósidos cardiotónicos. En cuanto al análisis de la actividad microbiológica, los resultados obtenidos con el extracto de los tallos revelaron la presencia de halos de inhibición del crecimiento frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae* (12 mm). Sin embargo, no hubo formación de halo para *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. En cuanto a los extractos obtenidos de los frutos, arrojaron un halo de inhibición solo para *Klebsiella pneumoniae* (11,6 mm), mientras que para las otras cepas no hubo formación de halos. En base a lo anterior, concluyeron que a pesar de que se necesitan pruebas más detalladas, los resultados obtenidos indican la presencia de metabolitos secundarios de gran importancia en la especie estudiada pudiendo considerarse una base preliminar que puede ayudar a establecer el uso de esta planta para el combate, el control o incluso prevención de enfermedades.

En otro estudio, realizado por Sharma, Sharma y Gupta (2021) titulado: evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica del extracto metanólico de raíz de *Solanum surattens* contra especies de *Candida*. El objetivo del estudio fue: evaluar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto metanólico de la raíz de *Solanum surattens* contra *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* y *Candida tropicalis*. Para la obtención de los extractos, la raíz de la planta se

sometió a calentamiento en baño de María en un recipiente junto con metanol y luego se evaporó el solvente por destilación, posteriormente se realizó el análisis de la actividad a través del método de difusión en pozos de agar empleando concentraciones del extracto de 20, 40, 60 y 80 µg/mL contra las especies de *Candida* antes mencionadas, empleando varias diluciones de los extractos frescos en una cantidad de 0,1 mL en cada pozo y utilizando Itraconazol® como control positivo para determinar la actividad antifúngica. En sus resultados, observaron que el extracto de mayor concentración (80 mg/mL) fue el que tuvo mejor actividad con un halo de 29 mm para *C.albicans* siendo muy similares a los del control positivo; los demás extractos de diferente concentración no arrojaron resultados significativos. Respecto al análisis fitoquímico del extracto metanólico de la raíz de *Solanum surattens* este reveló que contiene varios constituyentes como alcaloides, esteroides, flavonoides, taninos y glucósidos. Finalmente concluyeron que la actividad antifúngica del extracto metanólico de la raíz de *Solanum surattens* puede deberse a la presencia de estos fitoquímicos en la especie vegetal y la misma puede ser aprovechada desde el punto de vista medicinal.

Por otra parte, Yu y cols (2019), en su trabajo de investigación titulado: Actividad antifúngica de extractos glicolados crudos de la cascara de *Solanum tuberosum* L. (Patata Blanca) contra *Candida* y especies de *Aspergillus* tuvieron como objetivo principal: determinar la actividad antifúngica del extracto crudo de glicoalcaloides de las cáscaras de *Solanum tuberosum* L. (patata blanca) contra los hongos oportunistas *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus flavus*. El contenido de glicoalcaloides de las cáscaras secas de patata se extrajo con etanol mediante maceración y se confirmó empleando pruebas colorimétricas. El análisis de la actividad antifúngica se realizó a través del método de la concentración mínima inhibitoria (CMI) con dilución doble en caldo para los

cinco hongos empleando una concentración de 166,67 mg/mL del extracto y Anfotericina B y Fluconazol como antifúngicos de referencia. Los resultados de la CMI no arrojaron resultados relevantes para *C. albicans*, *C. glabrata*, *A. fumigatus* y *A. niger*, mientras que para *A. flavus* se encontró que el extracto tenía una CMI de 104,17 µg/mL, verificando así el efecto antifúngico del glicoalcaloide contra este microorganismo a dicha concentración. Por consiguiente, concluyeron que Los glicoalcaloides de *Solanum tuberosum* son una fuente potencial de antifúngicos contra ciertos hongos oportunistas.

Antecedentes Históricos

Desde tiempos antiguos, los recursos vegetales han sido aprovechados por el hombre para uso alimenticio o medicinal. Esto es gracias al acervo de metabolitos secundarios que poseen las plantas y sus frutos los cuales han constituido un punto de partida para el descubrimiento de nuevas sustancias bioactivas (Beltrán, Díaz y Gómez, 2013). En relación a lo anterior, se ha podido determinar que las plantas del genero *Solanum* son conocidas por su abundancia y por la actividad biológica que presentan la mayoría de ellas, gracias a que contienen una gran cantidad de metabolitos secundarios que son los responsables de dicha actividad. Existen diversos reportes de extractos y compuestos aislados de plantas del genero *Solanum* que se han utilizado para combatir diferentes afecciones tales como úlceras, enfermedades cardiovasculares y para controlar células cancerígenas y proliferación de hongos (Cárdenas, Martin, Martin y Pacheco, 2017). En el estudio de esta actividad antimicrobiana en plantas ha cobrado gran relevancia la implementación del método de Kirby-Bauer como prueba de susceptibilidad, puesto que este método de difusión con discos es sencillo, de costo permisible y aunque es un método cualitativo, brinda resultados confiables, lo cual hace

a este método útil, no solo para los laboratorios de microbiología de instituciones altamente especializadas, sino también para laboratorios menos especializados (Pérez, Batlle, Verdera y Llop, 2006).

En cuanto a la especie *Solanum quitoense*, también conocido como lulo o naranjilla un fruto climatérico de agradable aroma y sabor exótico, se han llevado a cabo diversos estudios sobre su composición química y propiedades nutraceuticas y medicinales, entre estos estudios resaltan las observaciones realizadas por Escobar (2012), quien realizó un estudio microbiológico y evaluación de la actividad antibacterial del aceite crudo de semillas de *Solanum quitoense* L frente a diversos microorganismos bacterianos por medio del método de difusión en agar, pudiendo concluir que a pesar de que dicho aceite no presento actividad antibacteriana al no inhibir el crecimiento de los microorganismos bacterianos a las concentraciones empleadas en el estudio, si logro cumplir con las normas requeridas para su uso en la industria cosmética si se trata con etanol como paso previo a la extracción del aceite para evitar su contaminación con hongos y otros microorganismos patógenos.

De igual forma, otro autor que dirigió su investigación a las propiedades de este promisorio fruto fue Puelles en el año 2020 en su tesis de grado acerca del efecto del zumo del fruto *Solanum quitoense* sobre el daño cerebral inducido por cloruro de mercurio y función cognitiva en ratones, este estudio tuvo como incentivo el aumento de la incidencia en las ultimas décadas de enfermedades neurodegenerativas, considerando necesaria la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas que puedan prevenir o ralentizar su desarrollo y darle una mejor calidad de vida a los pacientes ya diagnosticados. En su investigación pudo concluir que la ingesta de este zumo presentó un efecto neuro protector frente a la toxicidad inducida por cloruro de mercurio en los ratones, prediciendo su posible efecto beneficioso en humanos.

Finalmente, como explicación a estos efectos favorables a la salud, es preciso resaltar los aportes divulgados por Obregón, Arias, López , Bracamonte y Limaymanta (2021) en el artículo sobre los compuestos nutricionales y bioactivos de *Solanum quitoense* ya que en su investigación concluyeron que este fruto es una fuente potencial de nutrientes, minerales y compuestos bioactivos (vitamina C, polifenoles y carotenoides), que pueden ser utilizados como ingrediente funcional de diversos productos nuevos beneficiosos para la salud.

Bases Teóricas

Familia Solanaceae

La familia Solanaceae, es una de las más grandes y complejas de las angiospermas, incluye 2500 especies en 100 géneros. Estas plantas exhiben un amplio espectro de entidades químicas con diferentes actividades biológicas, importantes desde el punto de vista económico, agrícola y farmacéutico (Ramón y Galeano, 2020). En la flora de nuestro país Venezuela, esta familia se encuentra muy bien representada formando un grupo de plantas de relativa importancia por su diversidad florística, estando constituida por 32 géneros y alrededor de 215 especies (Benítez, 1997).

Aspectos Botánicos de la Familia Solanaceae

Las Solanáceas (Solanaceae) se caracterizan por ser plantas herbáceas con hojas alternas, simples, sin estipulas y poseer una gran variedad de hábitos, diversidad ecológica y morfología (Olmstead y cols., 1999). No hay un carácter especial que identifique a la familia, más bien son una combinación de caracteres lo que determina si una especie forma parte del grupo o no.

Generalmente la flor es el carácter más confiable para identificar los miembros de ésta familia, además es el atributo más difícil de modificar por la mano del hombre (Figura 1). En el caso de la solanácea, la flor presenta una corola de cinco pétalos unidos en tonos de blanco, rosa, amarillentos o morados, según la especie examinada (Long, 2001).

Las especies se distinguen por ser plantas leñosas o herbáceas decumbentes o trepadoras, las flores son solitarias o numerosas y se disponen en cimas, umbelas, racimos o panículas; generalmente son hermafroditas y actinomorfas, el cáliz es gamosépalo a menudo persistente y en ocasiones acrescente en el fruto, la corola es rotácea o tubular, 5 lobadas, 5 estambres, y el ovario es súpero con 5 lóculos. El fruto tiene forma de baya o capsula, dehiscente (Knapp, Bohs, Nee y Spooner, 2004).

Figura 1. Hojas y flores de algunas especies de la familia Solanaceae



Tomado y modificado de Zuñe, 2016.

Distribución Geográfica de la Familia Solanaceae

La familia Solanaceae tienen una distribución cosmopolita y se presenta con mayor frecuencia en regiones tropicales, sub tropicales y zonas

templadas, entre 0 metros hasta los 3000 metros (Orosco, Beltrán, Porras y Nee, 2008). Debido a su gran variedad de formas vegetativas y reproductivas, esta familia de plantas tiene la capacidad de colonizar distintos tipos de hábitats (Sierra y cols., 2015).

Compuestos Químicos Presentes en la Familia Solanaceae

La familia Solanaceae ha sido ampliamente estudiada descubriendo en ella diversas moléculas novedosas, tales como: Esteroides, Saponinas, Glicosidos, Alcaloides, en raíces, tallos y hojas. De todas las moléculas antes mencionadas, son los alcaloides a quienes se ha dado una importancia especial ya que estos han demostrado presentar actividad en todos los casos de estudio realizado (Knapp, Bohs, Nee, y Spooner, 2004).

www.bdigital.ula.ve

Usos Etnobotánicos y Actividad Farmacológica de la Familia Solanaceae

La principal importancia de la familia Solanaceae radica en su uso como fuente de alimento, puesto que abarca diversos rubros de gran valor nutricional (Boyd, Murray y Tyrl, 1984). Sin embargo, debido a la diversidad de géneros que la conforman existe también un gran potencial en su uso como fuente de nuevos fármacos por lo que en la actualidad existe un importante interés científico en la investigación de sus propiedades farmacológicas. Algunas de las propiedades farmacológicas demostradas son: analgésicas, antineoplásicas, hipoglucemiantes, antimicrobiana y antiparasitarias (Torres, López, De La Cruz y Silva, 2013). Cabe destacar que gracias a su actividad antimicrobiana se ha empleado en la medicina tradicional como antifúngico (Lozoya, Navarro, García y Zurita, 1992).

Género *Solanum*

El género *Solanum* es uno de los más grandes de la familia de las Solanaceae, posee alrededor de 1700 especies distribuidas en todo el mundo. (Costa y cols., 2018).

Aspectos Botánicos del Género *Solanum*

Este género incluye hierbas anuales, hierbas perennes y epifitas, lianas herbáceas, bejucos, sufrútices, arbustos y árboles. Las flores son pentámeras, gamosépalas y gamtopétalas con corolas estrelladas, pentagonales o rotadas y anteras dehiscentes por poros apicales (Figura 2). *Solanum* es paradójico por un lado al tener una flor en mano es muy fácil saber que se trata de este grupo, sus plantas alternan su crecimiento entre las fases vegetativa y reproductiva, en la fase vegetativa las plantas jóvenes tienen tallos monopódicos con 2-5 hojas y con filotaxia espiralada, mientras que durante la fase reproductiva el meristemo apical termina en una flor o inflorescencia (Murillo y Rodríguez, 2021).

Figura 2. Aspectos botánicos de especies del genero *Solanum*



Tomado y modificado de Murillo y Rodríguez, 2021.

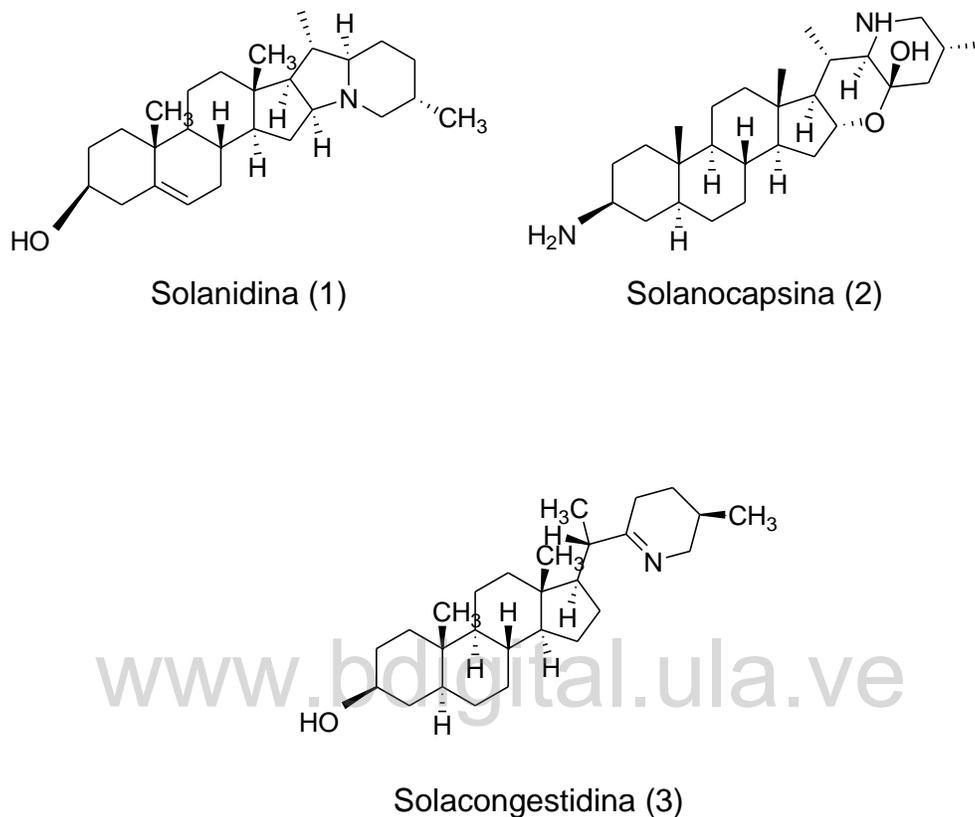
Distribución Geográfica del Género de *Solanum*

El género *Solanum* pertenece a la familia Solanaceae la cual tiene una distribución cosmopolita y que presenta su mayor diversidad en América del Sur. En su amplitud crece desde el nivel del mar a cordillera, sobre 4.500 m de altitud y aún “allende Los Andes” penetrando áreas de Venezuela, Brasil, Uruguay, Paraguay y Argentina (Contreras, 2008). En cuanto a Venezuela el género *Solanum* agrupa 100 especies distribuidas en los tres sub géneros presentes mayormente en estado tales como: Anzoátegui, Sucre, Trujillo, Yaracuy (Benitez y Medina, 2001).

Compuestos Químicos del Género *Solanum*

Este género se caracteriza principalmente , por su alto contenido en alcaloides esteroidales (Figura 3) dentro de los que destacan los del núcleo solanidina (1), espirosolano, solanocapsina (2), solacongestidina (3) y Jurabidina (Alarcón, Usubillaga y Velazco 2006; Pérez y Rojas, 2013). Generalmente también contienen saponinas del tipo esteroideal (Hostettamann y Marston, 1995; Mohan, Jaiswal y Kasutre 2009; Álvarez, Pérez, González, Navarro, Villarreal y Olson, 2001), flavonoides (Alves, De Silva, Alves, De Carvalho, Braz – Filho y Agra, 2004). En menor proporción se han encontrado terpenos (Kusano y Beisler, 1973) y aceites esenciales (Grierson y Afolayan, 2007; Pérez, Rojas, Arias, Carmona y Usubillaga, 2010). Así mismo, en estudios realizados sobre las propiedades antioxidantes del género *Solanum* se ha encontrado que esta se debe a la presencia de metabolitos secundarios tales como: Alcaloides, glicósidos, flavonoides, cumarinas, antocianinas y taninos (Ramón y Galeano, 2020).

Figura 3. Algunos compuestos aislados en el género *Solanum*



Tomado y modificado de Aguilar, 1999.

Usos Etnobotánicos y actividad Farmacológica del Género Solanum

Desde este punto de vista el género posee gran importancia ya que desde la antigüedad existen numerosas referencias acerca de su uso en la medicina natural (Hartwell, 1970). El género *Solanum* presenta gran riqueza y diversidad de propiedades farmacológicas, entre ellas, actividad citotóxica, anticancerígena, antiinflamatoria, antiulcerogénica, antimicrobiana y antioxidante (Costa y cols., 2018).

Solanum quitoense

Solanum quitoense también conocido como lulo o naranjilla, es una fruta originaria de los bosques húmedos subtropicales localizados en las vertientes oriental y occidental de la cordillera de los Andes entre los 1.200 y 2.500 msnm, su cultivo se lleva a cabo desde Chile hasta México, pero especialmente en Perú, Ecuador, Colombia, Panamá, Costa Rica y Honduras. Sus frutos son conocidos por su exquisito sabor que le confiere gran demanda de comercio, además de su valor nutritivo, calidad de su jugo y múltiples usos en la agroindustria, todo esto aunado a los beneficios que otorga a la salud con la presencia de vitaminas, minerales y propiedades naturales (Angulo, 2006). Taxonómicamente esta especie vegetal se clasifica como se indica a continuación en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de *Solanum quitoense*

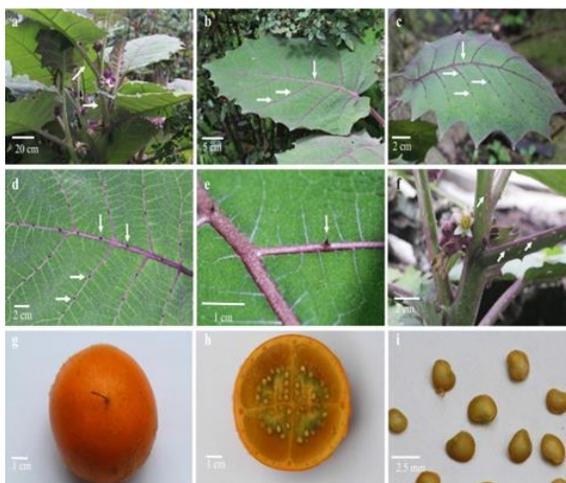
Clasificación Taxonómica	
Reino	Plantae
División	Magnolophyta
Sub División	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Sub Clase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Sub Familia	Solanoideae
Tribu	Solaneae
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Solanum quitoense</i>
Variedad	<i>quitoense</i> (sin espina)
	<i>septentrionale</i> (con espinas)

Tomado y modificado de Revelo y cols, 2010; Tipanluisa, 2011

Aspectos Botánicos de *Solanum quitoense*

Como toda Dicotiledónea, la planta lulo posee una raíz principal o pivotante, con un alto porcentaje de raíces fibrosas superficiales. El tallo es semileñoso, cilíndrico y succulento, que en su juventud es tierno y de color verde; este se transporta en un tallo leñoso de color café en su fase adulta y puede alcanzar hasta 3 metros de altura. Algunos genotipos poseen gran cantidad de espinas (*Solanum quitoense* var. *septentrionale*) mientras que otros son lisos con vellosidades suaves (*S. quitoense* var. *quitoense*). Las hojas son generalmente amplias de por lo menos 40 cm de largo y 34 cm de ancho, son de color verde por el haz y violeta por el envés; las flores se agrupan en racimos en número que varían entre 5 y 10 inflorescencias, los pétalos son blancos y morados por debajo. El fruto es una baya globosa con un diámetro de 4 a 8 cm y con un peso que oscila entre 40 y 80 gramos; en el híbrido mejorado “la Selva” su corteza es lisa, de color amarillo intenso o amarillo rojizo en la madurez; la pulpa es verde con numerosas semillas y de sabor agridulce tal como se muestra a continuación en la figura 4 (Gómez, Trejo, García y Cadeña, 2014).

Figura 4. Planta y frutos de *Solanum quitoense*



Tomado y modificado de Ramírez, 2021.

Distribución Geográfica de *Solanum quitoense*

Esta especie es un arbusto originario de la Cordillera de los Andes, cultivadas en las regiones sub tropicales de bosques húmedos situados a lo largo de ésta, en países como Ecuador, Colombia y Perú, además de países de América central como Guatemala y Costa Rica (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 2007).

Compuestos Químicos de *Solanum quitoense*

La importancia de las frutas tropicales está en su aporte de sustancias química tales como: antocianinas, flavonoides, vitamina C, A, E, taninos y ácidos orgánicos. En estudios fitoquímicos previos se ha determinado que *Solanum quitoense* presenta con mayor intensidad contenido de cumarinas (5), quinonas (6) y ácido gálico (7) (Figura 5), estas moléculas cíclicas diacetónicas que derivan de la oxidación de los fenoles pueden estar asociadas a múltiples compuestos químicos, entre ellas la vitamina K1, ubiquinona, benzoquinonas, plastoquinona y naftoquinonas, que tienen particularidades funcionales tales como beneficio de pigmentación, actuar como compuestos vitamínicos, actividad antitumoral, antimalárica y antifúngica (Ojeda y González, 2019).

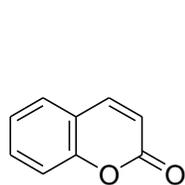
Por otra parte, en estudios de caracterización fisicoquímica de esta especie, se ha determinado que tiene una acidez titulable de 2,63 g. De ácido cítrico/100 g, 9,1 brix de sólidos solubles, un contenido total de polifenoles de 48 mg de ácido gálico EQ/100 g y un 12,5mg/100 g de contenido de ácido ascórbico, el contenido de carotenoides es de 33,3 $\mu\text{g/g}$, de los cuales, el 54,4% son β -carotenos, 32,2% gluteina, 6,1% cis β caroteno y 32,2 % violaxantina, (Lim, 2012). Dichos parámetros se presentan en la tabla 2 a continuación:

Tabla 2. Composición fisicoquímica de *Solanum quitoense*.

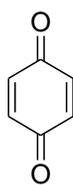
Composición Fisicoquímica	
Componente	(g/100 g)
Humedad	85,8 – 92,5
Proteína	0,107 – 0,6
Grasas	0,1 – 0,24
Carbohidratos	5,7
Fibra dietética	0,3 – 4,6
Azúcares	2,51
Cenizas	0,61 – 0,8
Ph	3,3
Sólidos totales	8

Fuente: tomado y modificado de Acosta, Pérez y Vaillant, 2009.

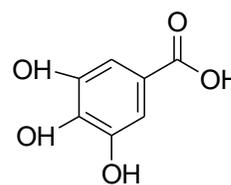
Figura 5. Algunos compuestos aislados de la especie *Solanum quitoense*



Cumarinas (5)



Quinonas (6)



Acido Gálico (7)

Tomado y modificado Franco y cols., 2021.

Usos Etnobotánicos y Propiedades Farmacológicas de *Solanum quitoense*

El sabor atractivo de los frutos del lulo aunado a su potencial nutricional con presencia de Vitaminas A, C, B1, B2, proteínas y minerales, ha sido aprovechado en el sector industrial para la fabricación de pulpas, mermeladas, helados, jugo y néctares (Forero y cols., 2014). Adicionalmente, los altos contenidos de vitamina C y de hierro le confieren propiedades diuréticas y tonificantes a estos frutos, siendo además un solvente de toxinas del organismo que facilita la eliminación de ácido úrico (Muñoz, 2011). Entre sus propiedades, se destaca una gran actividad antioxidante la cual es equivalente a la de la naranja, durazno y pera (Acosta, Pérez y Villant, 2009).

En cuanto a su efectividad contra hongos, esta especie pertenece al género *Solanum* el cual ha demostrado en estudios previos *in vitro* que diversas especies que lo componen poseen actividad antifúngica, algunas de estas son: *Solanum crysotrichum* para patógenos como *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* y *Microsporum gypseum* (Zamilpa, Tortoriello, Navarro, Delgado y Álvarez, 2002). Posteriormente, se realizaron estudios clínicos en una crema derivada del extracto metanólico de sus hojas, la cual mostró efectividad en *Tinea pedis* (Herrera y cols., 2003). Así mismo, *Solanum melongena* demostró actividad antifúngica contra *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans*, *Candida albicans* y *Trichosporon beigeii* (Das, Lahan y Srivastava, 2010). Además, se evidenció que *Solanum xanthocarpum* inhibe el crecimiento de *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger* (Dabur, Singh, Chhillar, Ali y Sharma, 2004), otros estudios recientes demostraron también la actividad antifúngica frente a *Candida albicans* (Garhewall, Shiv y Wast, 2014). Así mismo, las especies *Solanum nigrum* L y *Solanum hispidum* poseen actividad antifúngica contra *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton*

mentagrophytes, *Microsporum gypseum* y *Candida albicans* por lo que son comúnmente utilizadas como antimicóticos en la medicina folklórica de países como México (Shivakumar y Vidyasagar, 2015; Gonzalez y cols., 2004).

Productos Naturales

Los seres vivos son capaces de sintetizar una gran variedad de compuestos, pero se define como “productos naturales” o “metabolitos secundarios”, ambos sinónimos, a aquel que es propio de una especie, se le conoce también como producto químico y en la mayoría de los casos no tiene la utilidad aparente para el ser que los sintetiza, a diferencia de los metabolitos primarios o productos bioquímicos que presentan una utilidad definida y que son comunes en todos los seres vivos, algunos de estos son: carbohidratos, lípidos y proteínas (Marcano y Hasegawa, 2002). Los compuestos derivados del metabolismo secundarios se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos de ellos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros (Bruneton, 2001).

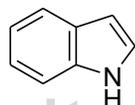
Los productos naturales pueden clasificarse de distintas maneras:

1. Según su biosíntesis: la mayoría de ellos provienen de reacciones enzimáticas, utilizando la glucosa como fuente de carbono; la cual es fotosintetizada en las plantas verdes y obtenidas a partir del entorno de los organismos heterótrofos. Existen tres rutas principales para la formación de metabolitos secundarios (Marcano y Hasewaga, 2002):

- Ruta del ácido mevalónico: a partir de este se forman enlaces de prenilo que tras uniones sucesivas conducen a isoprenoides (terpenoides, carotenoides, esteroides) (Marcano y Hasewaga, 2002).
 - Ruta del acetato-malonato: a partir del malonato y acetato se forman los policétidos y ácidos grasos (Marcano y Hasewaga, 2002).
 - Ruta del ácido shikímico: a partir de este se forman los aminoácidos y desde ellos los otros compuestos aromáticos más complejos (flavonoides y alcaloides) (Marcano y Hasewaga, 2002).
2. Según su actividad fisiológica: esta clasificación es independiente de su estructura y biosíntesis ocasionalmente se encuentran correlacionados entre su aspecto y actividad (Marcano y Hasewaga, 2002).
3. Según su estructura química: se trata de una clasificación formal basada en el tipo de esqueleto molecular:
- Compuestos grasos o alifáticos de cadenas abiertas como los ácidos grasos, azúcares y gran cantidad de aminoácidos (Marcano y Hasewaga, 2002).
 - Compuestos ciclo alifáticos como terpenoides, esteroides y algunos alcaloides (Marcano y Hasewaga, 2002).
 - Compuestos aromáticos o benzoicos como fenoles y quinonas (Marcano y Hasewaga, 2002).
 - Compuestos heterocíclicos como alcaloides, flavonoides, bases de ácidos nucleicos (Marcano y Hasewaga, 2002).

Alcaloides: Son bases orgánicas que se aíslan principalmente de las plantas superiores y se han encontrado en más de 100 familias Fanerógamas, en menor proporción en Criptógamas (licopodios), microorganismos (ergot) y animales (peces, sapos). Su actividad fisiológica principalmente a nivel de sistema nervioso, fue el motor de las primeras investigaciones en productos naturales. Algunos se han manifestado como altamente tóxicos y otros en dosis apropiadas son drogas comúnmente usadas en medicina (Figura 6) (Marcano y Hasewaga, 2002).

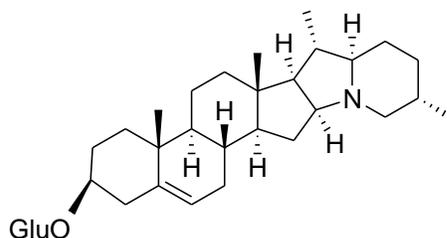
Figura 6. Estructura química del indol (Alcaloide)



Tomado y modificado de Loyola y cols., 2004.

Saponinas: Se llaman saponinas (Figura 7) a un grupo de sustancias glicosídicas que se disuelven en agua y poseen la propiedad de formar espuma al agitar la solución. Por hidrolisis (ácida, microbiológica o enzimática) de una saponina se obtienen carbohidratos y una aglicona “sapógenina”. Estos compuestos se aíslan de diferentes fuentes vegetales; por ser solubles en agua pueden extraerse fácilmente en frío o en caliente con agua o con alcoholes de bajo peso molecular (Marcano y Hasewaga, 2002). Las saponinas ofrecen una alta actividad superficial debido a la combinación estructurada de un grupo polar (azúcar) y uno no polar (esteroide o triterpeno), propiedad que permite su uso como un detergente natural, agente estabilizante y emulsificador en productos de limpieza y cosméticos (Ávalos y Pérez, 2009).

Figura 7. Estructura química de la Saponina



Tomado y modificado de Ahumada, Ortega, Chito y Benitez (2016).

Terpenos: constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios. La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Suelen ser insolubles en agua y derivan de la unión de unidades de isoprenos (Figura 8). Los sesquiterpenos, triterpenos y politerpenos se producen en el citosol y en el retículo endoplasmico; mientras que los monoterpenos, diterpenos, tetraterpenos y algunas quinonas preniladas se originan en los plásmidos. Muchos terpenoides son interesantes desde el punto de vista comercial debido a su uso como aromas y fragancias, así como en la industria cosmética y alimenticia por su importancia en la calidad de los productos agrícolas. Adicionalmente, poseen importancia medicinal por sus propiedades anticancerígenas antiulcerosas, antimalariales y antimicrobianas (Ávalos y Pérez, 2009).

Figura 8. Estructura química del Isopreno.

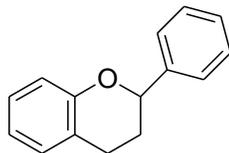


Tomado y modificado de Almeyda, 2017.

Cumarinas: Las α – pironas que se generan por lactonización del ácido *O*-cumárico se conocen como cumarinas y están ampliamente distribuidas en el reino vegetal. La estructura más sencilla, la cumarina misma es utilizada como aromatizante en confitería (Marcano y Hasewaga, 2002).

Flavonoides: su esqueleto carbonado contiene 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos (Figura 9), estos se clasifican en función del grado de oxidación del puente de tres carbonos, siendo las principales las antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles e isoflavonas (Ávalos y Pérez, 2009). Los flavonoides sin ser metabolitos primarios se encuentran casi en cualquier vegetal superior, hay más de 8000 compuestos conocidos de plantas vasculares, mientras que en los vegetales inferiores, algas, hongos y bacterias, los compuestos fenólicos principales son quinonas y xantonas y a estos deben su color. La función de los flavonoides en las plantas son varias puesto que se consideran antioxidantes y secuestradores de radicales libres, agentes antimicrobiales y antinutricionales, fotoreceptores y protectores contra la luz UV, agentes quelantes de metales, atractores visuales para los insectos, entre otros (Marcano y Hasewaga, 2002).

Figura 9. Estructura química de un Flavonoide.



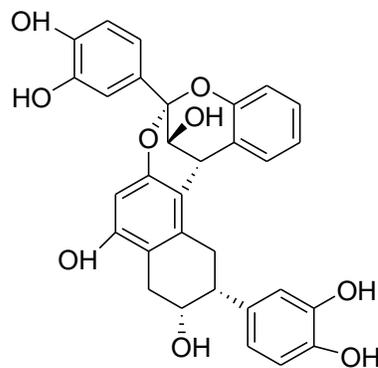
Tomado y modificado de Tenorio, Mondragón y Pastelín, 2006.

Quinonas: entre los productos naturales las quinonas están ampliamente representadas, bien sea como núcleo principal de una estructura o formando parte de moléculas complejas aromáticas o aromáticas-alifáticas y a veces

diméricas. Las quinonas constituyen un grupo importante de pigmentos vegetales y animales (Marcano y Hasewaga, 2002).

Taninos: Son compuestos fenólicos poliméricos que se unen a proteínas desnaturalizándolas. Comprenden dos clasificaciones estructurales: taninos condensados (Figura 10) los cuales son polímeros de unidades de flavonoides unidas por enlaces C-C, estos no pueden ser hidrolizados pero si oxidados por un ácido fuerte; y los taninos hidrolizables los cuales son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, sobre todo ácido gálico y azúcares simples, estos son más pequeños que los condensados y se hidrolizan más fácilmente (Ávalos y Pérez, 2009). Los taninos son sustancias que producen endurecimiento del cuero, están ampliamente distribuidos en dicotiledóneas leñosas y su función en las plantas no está clara, pero debido a su abundancia en tejidos jóvenes y en las heridas causadas en el tallo, particularmente aquellas cerca del suelo, se creen que son utilizados por el vegetal como protección contra infecciones de hongos y parásitos, es por ello que los árboles pobres en taninos, se pudren rápidamente (Marcano y Hasewaga, 2002).

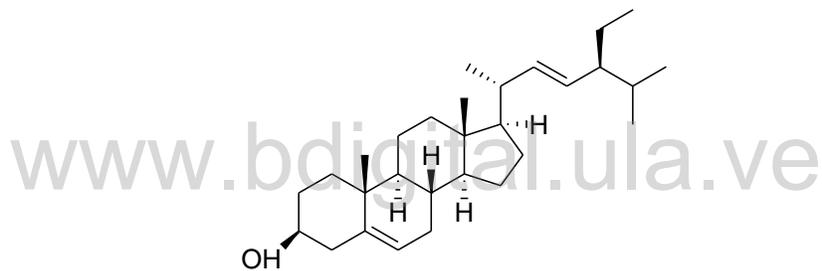
Figura 10. Estructura Química de un Tanino Condensado.



Tomado y modificado de Márquez y Suárez, 2008.

Triterpenos: entre estos se encuentran los esteroides derivados del escualeno, una molécula de cadena lineal de 30 carbonos de la que derivan todos los triterpenos cíclicos. Los esteroides que contienen un grupo alcohol, el cual es el caso de casi todos los esteroides vegetales, se denominan esteroides. Los más abundantes en las plantas son el estigmasterol (Figura 11) y el sitosterol. De esta manera, los esteroides poseen propiedades terapéuticas como: antivirales, analgésicos, anticonceptivos y antiinflamatorios. Además, poseen importancia farmacológica ya que comprenden sustancias tales como hormonas sexuales, vitamina D y antibióticos (Ávalos y Pérez, 2009).

Figura 11. Estructura química del Estigmasterol (Triterpeno)



Tomado y modificado de Peñaloza y Peláez, 2017.

Extractos Vegetales

Los extractos vegetales son mezclas complejas de metabolitos secundarios, que cubren un amplio espectro de efectos farmacológicos y propiedades biológicas. Los mismos son preparaciones de consistencia líquida (extractos fluidos y tinturas), semisólida (extractos blandos o densos) o sólida (extractos secos), obtenidos a partir de drogas vegetales o tejidos animales en estado generalmente seco (Ramírez, García, Vizcaíno, Cárdenas, Gutiérrez, Murga y Villagran, 2012).

Métodos de extracción vegetal

- **Maceración:** el proceso de maceración consiste en remojar el material a extraer, debidamente fragmentado, con un disolvente apropiado, hasta que éste penetre en los tejidos ablandando y disolviendo las porciones solubles. En un recipiente que no reaccione al disolvente (preferentemente de vidrio), se coloca el material a extraer y se cubre con el disolvente elegido, luego se tapa y se deja en reposo con agitación esporádica. Posteriormente se filtra el líquido y si el material aún contuviera las sustancias de interés, se repite el proceso con disolvente fresco (puro) tantas veces como sea necesario (Lamarmaque, Zygadlo, Labucas, López, Torres y Maestri, 2008).
- **Reflujo:** en este proceso, el material fragmentado disuelto en un solvente convenientemente escogido, se somete a ebullición. Debido a que un calentamiento prolongado de la solución podría conducir a la evaporación total del disolvente, se utiliza un equipo de reflujo que consta de un balón de destilación (que contiene el material a extraer más el disolvente) y un refrigerante. La temperatura elevada del disolvente permite una mejor extracción de los componentes deseados, ya que la solubilidad de la mayoría de las sustancias aumenta con la temperatura. Este método presenta el inconveniente de que muchos compuestos termolábiles, se alteran o descomponen a la temperatura de ebullición del disolvente (Lamarmaque, Zygadlo, Labucas, López, Torres y Maestri, 2008).
- **Lixiviación o percolación:** Es un proceso ampliamente difundido que consiste en colocar el material fragmentado en un recipiente cónico o cilíndrico, haciendo pasar un disolvente apropiado a través del mismo.

El tamaño de las partículas del material a extraer no debe ser menor a los 3 mm aproximadamente, dado que el disolvente no percolará. Sin embargo, el material debe estar debidamente compactado de modo que el disolvente eluya con cierta lentitud dando tiempo al mismo a tomar contacto con los tejidos y extraer los componentes deseados. De otra manera el residuo desechado contendrá gran parte del componente de interés. Este método no difiere significativamente de la maceración, aunque requiere el agregado de solvente en forma constante (Lamarmaque, Zygadlo, Labucas, López, Torres y Maestri, 2008).

- Extracción por arrastre con vapor de agua: El más antiguo y sencillo método para obtener aceites esenciales es la destilación por arrastre con vapor, a partir del material vegetal lo más fresco posible. Si un líquido orgánico es insoluble en agua y tiene una presión de vapor apreciable a la temperatura de ebullición de aquella, puede destilarse arrastrándolo con vapor de agua. Este método permite la máxima difusión del vapor a través del material vegetal, reduciendo los daños que pudiesen sufrir los componentes de las esencias extraídas por otros métodos. Los aceites esenciales o simplemente las esencias son sustancias volátiles e insolubles en agua por lo que pueden ser arrastradas por una corriente de vapor de agua. El equipo para realizar este procedimiento consta de un recipiente con agua, una cámara de extracción y un brazo lateral colector unido por un lado a un refrigerante y por el otro al destilador propiamente dicho. El material vegetal se corta en trozos pequeños y se coloca en la cámara de extracción, se calienta el agua hasta ebullición y se mantiene el hervor durante una hora, observándose la condensación de dos fases líquidas que posteriormente son retiradas y separadas. En las destilaciones por arrastre con vapor más comunes, la fase acuosa lleva disueltas

sustancias de bajo peso molecular y cantidades variables de los principales componentes de la esencia. Para recuperarlas, se coloca esta fase acuosa en una ampolla de decantación y se extrae con hexano u otro disolvente orgánico de bajo punto de ebullición tales como éter etílico, dicloro metano, etc (Lamarmaque, Zygadlo, Labucas, López, Torres y Maestri, 2008).

- Extracción continua: Para efectuar una extracción eficiente y agotar el material que se está extrayendo, muchas veces se requieren volúmenes muy grandes del disolvente de extracción, por lo que el costo y manipulación de tales cantidades hacen poco práctica la operación. En estos casos resulta de gran utilidad el empleo de aparatos que por su diseño permitan ahorrar tiempo y dinero. Existen tres diseños básicos de aparatos para realizar una extracción continua (Lamarmaque, Zygadlo, Labucas, López, Torres y Maestri 2008):
 - a) Aparato de Soxhlet para extracción sólido – líquido
 - b) Aparato para extracción líquido – líquido con un disolvente menos denso que la solución que contiene la sustancia a extraer.
 - c) Aparato para la extracción líquido – líquido con un disolvente más denso que la solución que contiene la sustancia a extraer (Lamarmaque, Zygadlo, Labucas, López, Torres y Maestri 2008).

Análisis Fitoquímico

Según Sharapin (2000) el tamizaje fitoquímico o “screening” fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica que permite determinar cualitativamente los principales grupos de los constituyentes

químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración y precipitación, el mismo debe permitir la evaluación rápida con reacciones sensibles y de bajo costo.

Para determinar la presencia de ciertos grupos químicos en una planta se efectúan una serie de pruebas, que dependiendo de las características estructurales y de solubilidad permiten la identificación de los mismos (Domínguez, 1979). Entre estas pruebas se encuentran:

Determinación de Alcaloides: se lleva a cabo mediante la prueba de Dragendorff, Wagner y Mayer y se fundamenta en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal de combinarse con el yodo y metales pesados formando precipitados (Domínguez, 1979). Con el reactivo de Dragendorff los alcaloides se detectan por la formación de un precipitado naranja rojizo cuando se le adiciona el reactivo a una solución acida de alcaloides; este precipitado es un compuesto formado por tres moléculas de alcaloides en coordinación electrostática con el bismuto del reactivo de Dragendorff. En cuanto al ensayo de Wagner, parte del iodo-ioduro de potasio reacciona con el alcaloide para formar el ioduro doble de alcaloide que produce un precipitado color café que indica la positividad de la prueba (Rengifo, 2013). En el ensayo de Mayer el reactivo usado es el Mercurio tetrayodado potásico y se observa un precipitado blanco-amarillento (Domínguez, 1979).

Determinación de Flavonoides: mediante la prueba de Shinoda se puede reconocer la presencia de flavonoides en un extracto vegetal, puesto que estos al ser tratados con magnesio (Mg) y ácido clorhídrico (HCl) dan complejos

coloreados que dependen de la estructura del flavonoide presente. El Mg metálico es oxidado por el HCl dando como productos al hidrogeno molecular (H_2) que es eliminado en forma de gas y al cloruro de magnesio ($MgCl_2$) que es el que forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características: anaranjado para flavonas, rojo para dihidroflavonas, rojo azulado para flavonoles y violeta para dihidroflavonoles y xantonas (Rengifo, 2013). Todos los flavonoides dan positivos a esta reacción excepto chalconas, auronas e insoflavonas (Domínguez, 1979).

Determinación de Triterpenos: mediante la prueba de Liebermann-Buchard, es posible reconocer la presencia de triterpenos y/o esteroides, esta prueba utiliza una mezcla compuesta de ácido sulfúrico y anhídrido acético que produce sustancias cromóforas con el ciclopentano perhidrofenantreno, por el incremento de los dos dobles enlaces conjugados formados por la deshidratación e isomerizaciones en los terpenos y esteroides. Se considera positiva la prueba cuando aparecen coloraciones rojo o verde (Domínguez, 1979).

Determinación de Fenoles: el ensayo de cloruro férrico permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. Los fenoles dan prueba positiva en presencia de una solución de $FeCl_3$, al cambiar el color de está que es amarillo-naranja a verde, violeta o pardo. El ion cloruro ataca al hidrogeno provocando una ruptura de enlace y la unión del grupo fenóxido al hierro provocando una precipitación (Marcano y Hasewaga, 2002).

Determinación de Saponinas: mediante el ensayo de espuma se puede reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroidal como triterpenicas. La característica estructural de estos compuestos les

confiere un carácter anfótero que les permite actuar como tensioactivos y formar espuma que es estable por lo menos 30 minutos (Carvajal, Hata, Sierra y Rueda, 2009).

Determinación de Taninos: se realiza por medio de la prueba de la gelatina al 1 % ya que estos son polifenoles que tienen la propiedad de unirse a las proteínas y precipitarlas, su presencia se observa por la aparición de un precipitado blanco (Carvajal, Hata, Sierra y Rueda, 2009).

Determinación de Quinonas: mediante la prueba de H_2SO_4 ; las quinonas son dicetonas insaturadas que por reducción se convierten en polifenoles los cuales fácilmente las regeneran por oxidación. Esta reacción da como resultado una coloración de amarilla a roja (Domínguez, 1979).

Determinación de Cumarinas: se realiza mediante la prueba de NH_4OH (Hidróxido de amonio concentrado) y se basa en la apertura y solubilización en medio básico, se caracteriza por su intensa absorción en la región ultravioleta del espectro, las cuales al ser examinadas a la luz ultravioleta presentan una coloración exaltada en presencia de amoniaco (Domínguez, 1979).

Hongos

Son organismos eucarióticos, portadores de esporas, sin clorofila, que se reproducen sexual y asexualmente y cuyas estructuras ramificadas y filamentosas están rodeadas por paredes celulares que contienen quitina o celulosa, incluso ambas, junto con otras moléculas orgánicas complejas. Se conocen entre 80000 y 100000 especies de hongos y entre ellos los mohos que se desarrollan sobre la materia orgánica en descomposición y las levaduras que son abundantes sobre los frutos maduros, también se conocen

hongos patógenos de humanos, animales y plantas (Tortora, Berdell, Funke y Case, 2007).

Según Álvarez, Isaza, Acosta y Yepes (2005) las micosis superficiales son las infecciones por hongos más comunes en todo el mundo y constituyen un problema de salud pública especialmente en países tropicales. El clima húmedo la sobrepoblación y las malas condiciones higiénicas han conducido a un aumento de la prevalencia de estos patógenos. Actualmente estas micosis han adquirido renovada importancia y son una causa de consulta médica frecuente.

Género *Candida*

Según Silva, Díaz y Febres (2002), el género *Candida* forma parte de la microbiota habitual de nuestro organismo, pero en ciertas condiciones en la que el hospedador se encuentra en estado de inmunosupresión, algunas de sus especies son los agentes causales de la candidiasis, micosis oportunista, aguda sub aguda o crónica, de alta incidencia en nuestro medio y a nivel mundial, afectando a predisponentes del huésped en combinación con los factores de patogenicidad del microorganismo, los que favorecen el desarrollo de la infección. Estos agentes infecciosos son cosmopolitas colonizando mucosas del tracto intestinal (50-70 %), boca (30-50 %), vagina (5-30 %) y piel (4-7 %).

En relación a la anterior, Mendoza (2005) considera que las especies de *Candida* se encuentran entre los agentes etiológicos más comunes de infección nosocomial invasora y están asociados a una alta mortalidad, especialmente en pacientes hospitalizados en cuidados intensivos (UCI). En los últimos años se ha observado que además de *Candida albicans*, otras

especies de éste género han incrementado su importancia clínica como agentes causales de candidiasis, entre estas tenemos: *Candida kefyr*, *Candida stellatoidea*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Candida famata*, *Candida krusei*, *Candida glabrata*, *Candida pelliculosa*, *Candida lusitaniae*.

Candida albicans

Candida albicans es una levadura comensal que reside en las membranas mucosas de las cavidades oral y vaginal, así como en el tracto gastrointestinal de los humanos; normalmente es inofensiva en el hospedero sano, pero su patogenicidad se dispara en el hospedero inmunocomprometido causando una infección oportunista denominada micosis. La invasión inicial por este microorganismo depende de factores inmunológicos del hospedero, pero una vez que ocurre este posee características intrínsecas que promueven su habilidad para causar enfermedad (Panizo y Reviakina, 2001). En cuanto a sus características morfológicas, *C. albicans* suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras con paredes finas, sin embargo en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levaduras que permanecen unidas entre sí (Pardi y Cardozo, 2002).

El tratamiento para combatir la candidiasis puede ser tópico o sistémico según el tipo de infección, los antifúngico más utilizados son los derivados imidazolicos (Fluconazol, Itraconazol, Ketoconazol, Miconazol, etc.), sin embargo en la actualidad se observa una disminución en la efectividad de estos medicamentos, es decir, un fenómeno de resistencia de parte del microorganismo a estos fármacos, esto debido principalmente al surgimiento

de levaduras resistentes, a la aparición de nuevas especies patógenas, a la prescripción irracional de antimicóticos como profilaxis y al aumento de las dosis terapéuticas (López, Dzul, Lugo, Arias, Zavala, 2016).

Candida krusei

Cándida krusei, es un hongo levaduriforme aislado en pacientes generalmente inmunocomprometidos (Hager, Mir y Hsu, 2010). Anteriormente se pensaba que estaba presente en limitadas infecciones, pero en los últimos años se relaciona con endocarditis, infecciones oculares, accesos intra-abdominales y funguemias, siendo el responsable del 1-2 % de todas las infecciones reportadas por el género *Candida*; es así como ha tomado mayor relevancia con su creciente participación en infecciones oportunistas especialmente en paciente con leucemias, diabetes mellitus y aquellos con tratamientos de quimioterapias e inmunosupresores (Jiang, Jones y Shekar, 2006).

Adicionalmente, Hager, Mir y Hsu (2010) mencionan que este patógeno coloniza principalmente el tracto intestinal, lo que puede deberse a la amplia utilización de antimicrobianos, mientras que se encuentra con menor frecuencia en el tracto respiratorio y urinario. Este microorganismo puede encontrarse en infecciones locales leves similares a las producidas por *Candida albicans* o en enfermedades diseminadas causando fiebre, erupción papular y fallo multi-orgánico. Existen estudios que revelan una tasa significativamente mayor de mortalidad asociada con funguemias por *Candida krusei* en comparación con la causada por *Candida albicans*.

En cuanto a su patrón de resistencia microbiológica, este microorganismo es reconocido como un patógeno potencialmente multi resistente debido a su

resistencia intrínseca a fluconazol, además de poseer una sensibilidad disminuida a la flucitosina y a la anfotericina B, sin embargo ha demostrado sensibilidad al Voriconazol *in vitro*, el cual se ha utilizado con éxito para tratar varias infecciones causadas por este hongo (Ortigoza y Arroyo, 2014).

Mecanismos de Resistencia de los Hongos

La pared celular de los hongos es una estructura de gran plasticidad, compuesta por glucanos, quitina y glicoproteínas, que actúan protegiendo a la célula de diferentes tipos de estrés ambiental, entre los que destacan los cambios osmóticos. Esta pared celular les permite la interacción con el medio externo, puesto que algunas de sus proteínas adhesinas y receptores, así mismo algunos de sus componentes tienen una alta capacidad inmunogénica. Por consiguiente al no estar presente los componentes de la pared celular fúngica en el ser humano, esta estructura es una diana o sitio blanco excelente para el ataque por parte de la terapia antifúngica (Pontón, 2008).

Según Mellado, Cuenca y Rodríguez (2002) la resistencia de los hongos frente a los antifúngicos, es un concepto amplio que puede clasificarse en resistencia clínica y resistencia microbiológica. La resistencia clínica puede definirse como el crecimiento o falta de inhibición de un hongo en el foco de infección, aunque existan concentraciones terapéuticas del fármaco en cuestión y está relacionada con distintos factores dependientes del fármaco, del paciente o de ambos. Así mismo, dichos autores exponen que la resistencia microbiológica se puede subdividir en:

1. Resistencia Intrínseca o innata: Es aquella que presentan todas las cepas de una misma especie de un hongo y no tiene relación en la exposición al antifúngico (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002).

2. Resistencia primaria: Es la que ocurre en una especie de cepas normalmente sensibles a un antifúngico, cuando aparecen de forma espontáneas cepas resistentes, sin haber estado en contacto previo con el antifúngico (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002).
3. Resistencia secundaria o adquirida: Es la que se desarrolla después de la exposición a los antifúngicos y que puede ser debida a alteraciones fenotípicas y genotípicas que se manifiestan de forma estable o transitoria (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002).

Clasificación de los Antifúngicos y Mecanismo de Acción

El número de antifúngicos para tratar las micosis es muy escaso y la eficacia de estos para el tratamiento de micosis graves es delicado. Esto puede explicarse por la falta de técnicas que diagnostiquen de forma precoz la infección, así como por la toxicidad de los antifúngicos, las limitaciones que presenta la dosificación de algunos fármacos (como anfotericina B convencional), las escasas alternativas terapéuticas y por la aparición de cepas con resistencia secundaria a los antifúngicos o especies con resistencia intrínseca a los mismos (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002). En cuanto a su clasificación, los antifúngicos se clasifican en:

- Polienos: Los polienos se unen a los esteroides de membrana fundamentalmente (ergosterol) y esta unión genera la formación de canales por lo que las células fúngicas pierden iones y moléculas carbonadas. La anfotericina B se mantiene como fármaco de primera línea en el tratamiento de las infecciones fúngicas invasoras, al tener perfil de actividad amplio (levaduras, hongos miceliales y hongos

patógenos primarios), no obstante, su uso es limitado debido a su elevada toxicidad (Mellado, Cuenca y Rodríguez en 2002).

- **Azoles:** Los azoles bloquean la síntesis del ergosterol uniéndose fundamentalmente a la enzima 14- α -demetilasa y de esta forma se acumulan esteroides metilados que resultan tóxicos para las células. Este grupo de antifúngicos revolucionó la micología médica por su espectro de actividad y sus limitados efectos adversos, el único inconveniente de los mismos es la escasa utilidad que hasta la fecha han demostrado en las infecciones invasoras graves por hongos miceliales, así como la aparición de cepas con resistencia secundaria (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002).
- **Equinocandinas:** Es una nueva clase de antifúngicos que actúa inhibiendo la síntesis del 1-3- β -glucano, uno de los principales componentes de la pared celular fúngica. Este mecanismo de acción le confiere ciertas ventajas, ya que no demuestra resistencia cruzada con los antifúngicos que actúa sobre la membrana, permitiendo utilizar terapia combinada con azoles o anfotericina B (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002).
- **Alilaminas:** Ejercen su acción mediante la inhibición de la escualeno epoxidasa, una enzima implicada en la síntesis del ergosterol. La Terbinafina es el único fármaco comercializado de esta clase en forma de presentación oral y posee actividad frente a dermatofitos, levaduras y hongos filamentosos, además de mostrar efectos sinérgicos con los azoles (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002).

Métodos de Sensibilidad Antimicrobiana

Descritos por García y cols (2000) como aquellos métodos que permiten definir la actividad *in vitro* de un antimicrobiano frente a un microorganismo determinado, reflejando su capacidad para inhibir el crecimiento del posible patógeno en cuestión. Estos métodos deben estar convenientemente normalizados y sujetos a procesos de control que aseguren su reproducibilidad, siendo los más utilizados y aceptados los métodos de difusión y dilución.

Concentración Mínima Inhibitoria

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se define como la mínima concentración de antimicrobiano (en µg/mL) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37 °C. Este método se ha establecido como "*gold Standard*" frente a otros métodos que evalúan también la susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales y dar respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado (Horna, Silva, Vicente y Tamariz, 2005).

Método de Kirby-Bauer

En el método de Kirby-Bauer o método de difusión en disco, el microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antifúngico, dichas placas se incuban por 16-18 horas a 35-37 °C. Durante la

incubación, el antifúngico difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antifúngico en el medio es incapaz de inhibir al microorganismo en estudio. El diámetro del área de inhibición alrededor del disco puede ser clasificado en las categorías de sensible (S) intermedio (I) o resistente (R) de acuerdo a tablas publicadas por los organismos encargados del control de tales método (Hudzicki, 2009).

Definición de Operacional de Términos

Cepas de referencia

Los ceparios o colecciones de microorganismos son fuentes de recursos genéticos cuyo propósito es la preservación de la diversidad biológica, garantizando su disponibilidad para actividades de docencia, investigación y comerciales (Gutierrez y cols., 2015).

Fitoquímicos

Los fitoquímicos o fitonutrientes son elementos químicos obtenidos de plantas y que se han identificado como elementos activos para la prevención de enfermedades, puesto que estos elementos regulan los procesos corporales vitales para conservar la salud y ayudan a atacar las enfermedades (Gasaly, Riveros y Gotteland, 2020).

Fármaco

Es un compuesto químico bien definido, puro, natural o sintético, dotado de una actividad biológica que puede ser aprovechable, o no, por sus efectos terapéuticos (Galbis, 2004).

Etnobotánica

La etnobotánica es el campo científico que estudia las interrelaciones que se establecen entre el hombre y las plantas, a través del tiempo y en diferentes ambientes (Jones, 1941).

Taxonomía

Este término se refiere a la ciencia de la clasificación que se aplica en la biología para la ordenación sistemática y jerarquizada de los grupos animales y vegetales (Rodríguez, 2011).

Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos químicos que el cuerpo humano utiliza para eliminar radicales libres, que son sustancias químicas muy reactivas que introducen oxígeno en las células y producen la oxidación de sus diferentes partes, alteraciones en el ADN y diversos cambios que aceleran el envejecimiento del cuerpo (Ramírez y cols., 2012).

Bioactividad

Capacidad que posee un compuesto de interactuar químicamente con los tejidos del organismo (Castro y Ledea, 2011).

Operacionalización de las Variables

Según Palella y Martins (2012), las variables son conceptos abstractos que no se pueden medir. Por esto, la operacionalización es un proceso en el cual se define, categorizan y determinan los indicadores que caracterizan las variables de una investigación. A continuación se presenta el cuadro de operacionalización de las variables (tablas 3 y 4).

Tabla 3. Operacionalización de la variable dependiente: Actividad antifúngica de los frutos de *Solanum quitoense*.

1.- Variable	2.- Tipo	3.- Definición conceptual ¿Qué es?
Actividad antifúngica de los frutos de <i>Solanum quitoense</i>	Dependiente	Capacidad de una sustancia de producir una alteración en las estructuras de la célula fúngica con la finalidad de inhibir su crecimiento, afectando su desarrollo o supervivencia. (Grayer y Harborne, 1999).
4.- Definición operacional ¿Cómo se mide?	5.- Dimensiones	6.- Indicador
Mediante el método de difusión en disco o método kirby-Bauer	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Candida krusei</i> - <i>Candida albicans</i> 	Presencia o ausencia de halos de inhibición (en mm) frente a cepas de <i>Candida</i> de referencia internacional.

Elaborado por Echeverría y Hernández (2023).

Tabla 4. Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los frutos de *Solanum quitoense*

1.- Variable	2.- Tipo	3.- Definición conceptual ¿Qué es?
Composición química de los frutos de <i>Solanum quitoense</i>	Independiente cualitativa	Metabolitos secundarios, es aquel que es propio de una especie, se le conoce también como producto natural y en la mayoría de los casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza (Marcano y Hasegawa, 2002).
4.- Definición operacional ¿Cómo se mide?	5.- Dimensiones	6.- Indicador
Tamizaje fitoquímico Pruebas químicas cualitativas de coloración y/o precipitación	Alcaloides: Reacciones de Dragendorff, Wagner y Mayer.	Aparición de Turbidez o precipitados
	Triterpeno/Esteroles: Reacción de Liebermann-Bourchard.	Coloración Roja para triterpenos y verde para esteroles.
	Compuestos Fenolicos: Prueba de tricloruro férrico.	Coloración negra.
	Saponinas: Prueba de espuma.	Formación de espuma al agitar que se mantiene.

	Taninos: Prueba de gelatina al 1 %.	Formación de un precipitado blanco.
	Flavonoides: Reacción de Shinoda y NaOH al 10 %.	Coloración roja en la prueba de shinoda y naranja o amarillo en la prueba de NaOH al 10 %.
	Antraquinonas: Con Hidróxido de amonio	Aparición de coloración rojiza
	Quinonas: Con ácido sulfúrico concentrado.	Aparición de coloración rojiza

Elaborado por Echeverría y Hernández (2023).

www.bdigital.ula.ve

Sistema de Hipótesis

Hipótesis alternativa

Investigaciones previas han demostrado que especies del género *Solanum* biosintetizan metabolitos secundarios que poseen actividad biológica, por lo que es de esperarse que los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* posean metabolitos secundarios que le confieran la actividad antifúngica.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Hurtado (2010) expone que la selección del tipo de investigación está íntimamente relacionada con el objetivo general, proveniente del enunciado holopráxico. Además, toma en cuenta las variables y como están relacionadas entre sí, que tanto intervendrá el autor y los resultados que se desean obtener. En consecuencia, existen 10 tipos de investigación, siendo la exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. En cuanto a la investigación confirmatoria, esta tiene como finalidad confirmar se cumpla la Hipótesis. Por lo tanto, en esta investigación se confirmará la relación causa-efecto entre la composición química y la actividad antifúngica de los frutos de *Solanum quitoense* frente a cepas de referencia internacional.

Diseño de Investigación

Está definido en base al procedimiento por el cual se recolectarán los datos, abarcando los aspectos operativos o experimentales de la investigación. Igualmente, está relacionado con el cómo, cuándo, cuánto dónde se recolectarán los datos de investigación tal como lo expone Hurtado (2010). En tal sentido, este trabajo de investigación tendrá un diseño de campo y de

laboratorio, contemporáneo, transversal y bivariable respectivamente. Es de campo y de laboratorio debido a que la muestra fue recolectada de fuentes vivas y procesadas en Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” y en el Laboratorio de Micología “Dr. Corrado Capretti”, ambos pertenecientes a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. También, es contemporáneo, transversal y bivariable debido a que los datos se obtendrán en la actualidad, solamente se recolectará la muestra una vez y posee dos variables a estudiar.

Población y Muestra

www.bdigitalula.ve
Unidad de investigación

La unidad de investigación o población objetivo es un conjunto finito o infinito de elementos con características comunes para los cuales serán extensivas las conclusiones de la investigación (Arias 2004). La Unidad en estudio de esta investigación está representada por los frutos de *Solanum quitoense*.

Selección del tamaño de la muestra

La “n” muestral estuvo representada por 1700 g de los frutos de *Solanum quitoense* el tipo de muestra utilizada es no probabilística, puesto que la elección de los elementos no depende de la probabilidad, sino de causas relacionadas con las características de la investigación o de quien hace la muestra (Hernández, Fernández y Baptista, 2010).

Sistema de Variables

Existen diferentes tipos de variables, según sus funciones se clasifican en: variable dependiente, variable independiente y variable interviniente. En el caso de la variable dependiente es aquella que se modifica por acción de la variable independiente, en ella se miden los efectos o consecuencias para luego dar los resultados en la investigación. En relación a la variable independiente es la causa que genera y explica los cambios en la variable dependiente, y en cuanto a la variable interviniente es la que se interpone entre la variable independiente y la variable dependiente, pudiendo influir en la modificación de esta última (Buendía, Colás y Hernández, 1998).

Las variables relacionadas con el sistema de esta investigación son las siguientes: variable dependiente (VD): Actividad antifúngica de los frutos de *Solanum quitoense*, sus categorías son: presencia de actividad antifúngica y ausencia de actividad antifúngica. Y la variable independiente (VI): Composición química de los frutos de *Solanum quitoense* cuyas categorías son: presencia de metabolitos secundarios y ausencia de metabolitos secundarios.

Instrumento de Recolección de Datos

Un instrumento de recolección de datos es cualquier recurso, dispositivo o formato que se utiliza para obtener, registrar o almacenar información (Arias, 2004). En la presente investigación el instrumento a utilizado fue la observación con el fin de verificar la presencia o ausencia de los diferentes compuestos químicos en los extractos de la especie en estudio por medio de reacciones químicas cualitativas, de igual manera se observó la presencia y/o

ausencia de halos de inhibición de los en los cultivos de cepas de referencia internacional frente a concentraciones determinadas de los extractos de la corteza y la pulpa de los frutos de *Solanum quitoense*.

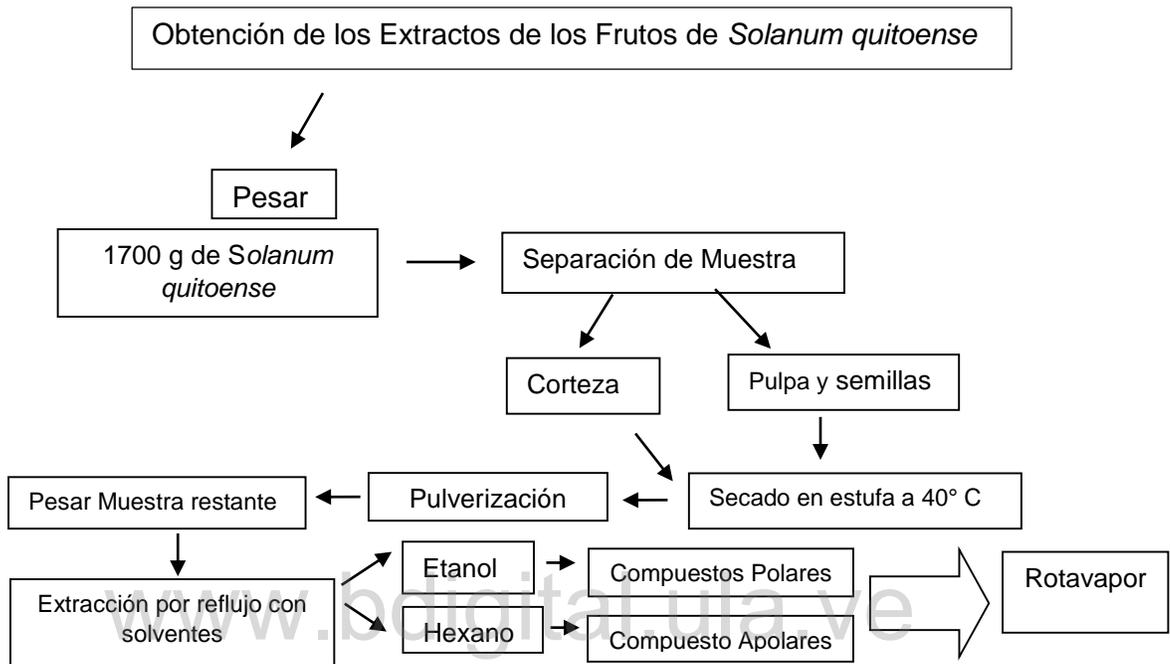
Procedimiento de la Investigación

El investigador describió con detalle, paso por paso, mediante tablas y fotografías, el proceso que llevó a cabo durante la investigación y los resultados obtenidos de la misma. Esta descripción permitió verificar que el procedimiento utilizado cumplió con los requerimientos metodológicos del proceso de investigación, además de permitir que otros investigadores puedan apoyarse en dicha información para investigaciones similares en otros contextos (Hernández, Collado, Batista, 2010).

Recolección y transporte del material vegetal

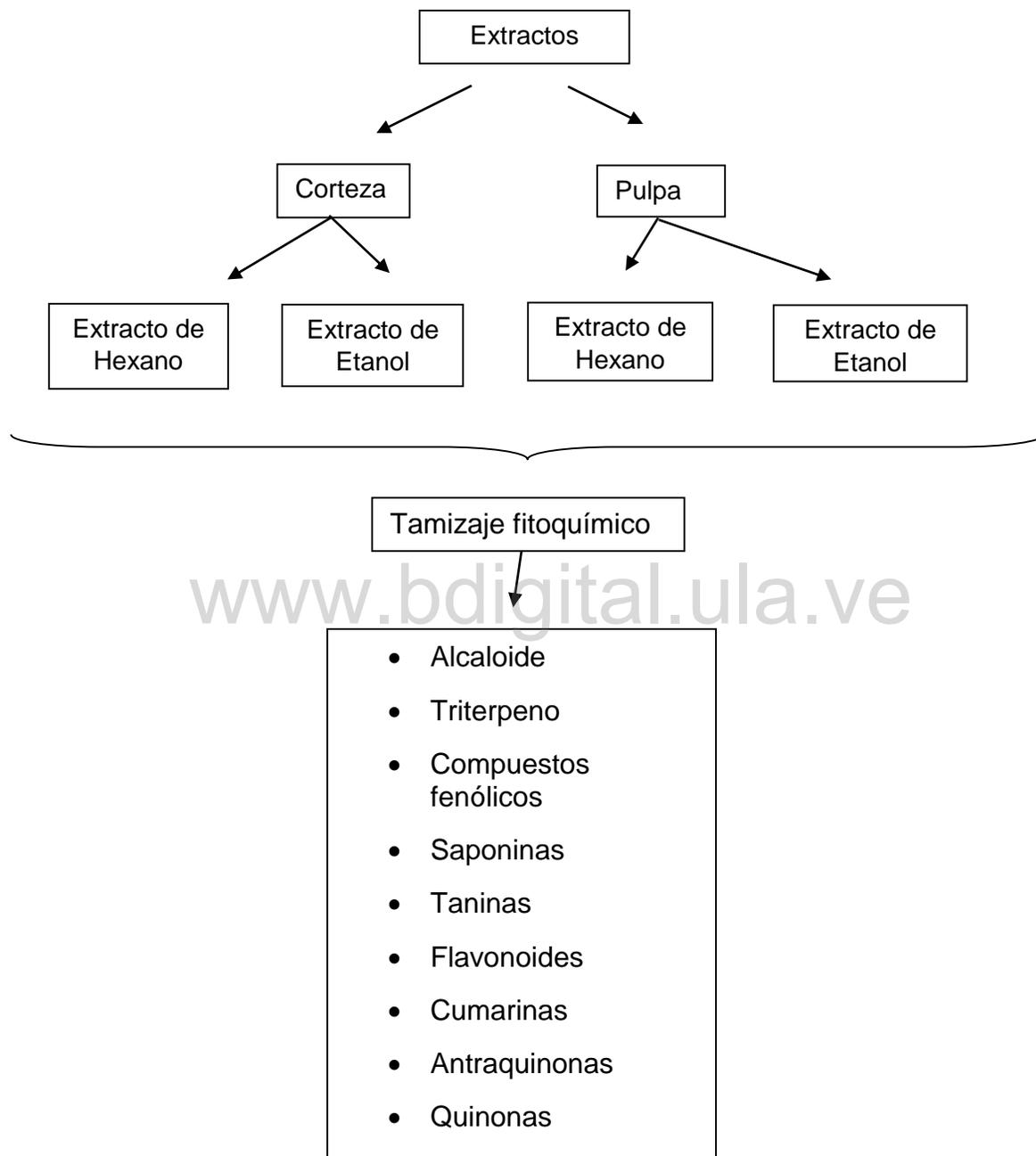
La muestra está dada por los frutos de *Solanum quitoense* (lulo) los cuales fueron colectados en el departamento del Valle del Cauca en Colombia y transportadas al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis para su procesamiento. Estos frutos fueron separados en dos partes, en un envase se almaceno la pulpa que contiene las semillas y en otro la corteza, ambos se colocaron en la estufa a 40 °C hasta lograr su completa sequedad (Esquema 1).

Esquema 1. Procedimiento empleado para la obtención de los extractos



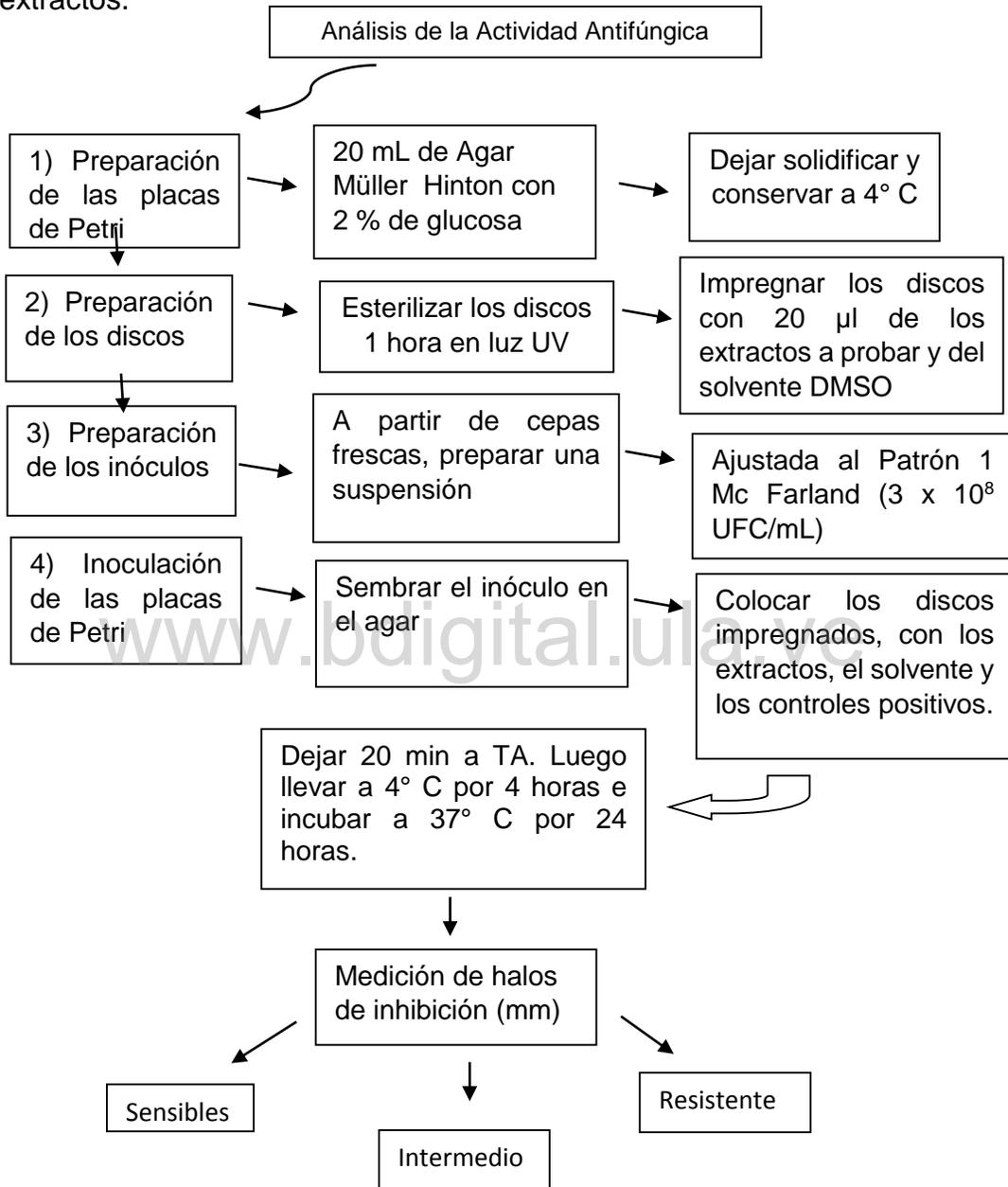
Elaborado por Echeverría y Hernández (2023).

Esquema 2. Tamizaje fitoquímico de los extractos de *Solanum quitoense*



Elaborado por Echeverría y Hernández (2023).

Esquema 3.- Procedimiento para el análisis de la actividad antifúngica de los extractos.



Elaborado por Echeverría y Hernández (2023).

Obtención de los Extractos Vegetales

La corteza y la pulpa de los frutos de *Solanum quitoense*, previamente secadas en la estufa, fueron molidas por separado mediante un proceso de pulverización mecánica en un mortero y se procedió a la determinación de su peso en una balanza analítica, considerando el peso del envase de vidrio que contenía cada material vegetal, registrando 64,04 g de corteza y 41,91 g de pulpa, ambos en peso neto. Posteriormente con dichas muestras pulverizadas se realizó el proceso de extracción por medio del método de extracción por reflujo en calor usando 300 mL de cada solvente de distinta polaridad, en este caso hexano (apolar) y etanol (polar), luego se filtraron y el solvente se evaporó hasta completa sequedad en un rotavapor, obteniendo así cuatro extractos: 2 de la corteza (hexano y etanol) y 2 de la pulpa (hexano y etanol).

www.bdigital.ula.ve

Análisis Fitoquímico Preliminar

A los extractos de Hexano y de Etanol de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* obtenidos previamente, se le realizaron los ensayos correspondientes al tamizaje fitoquímico, a fin de determinar de forma cualitativa los grupos de metabolitos secundarios presentes en la especie en estudio, estos procedimientos se llevaron a cabo basados en lo descrito por Miranda y Cuellar (2000). Los metabolitos secundarios analizados fueron los siguientes:

- **Presencia de Alcaloides:** se tomó pequeñas porciones de los extractos, previamente obtenidos, en un tubo y se le añadió 5 ml Ácido Clorhídrico (HCl) al 10 %, luego se llevaron a baño de maría

aproximadamente por 1 hora. Pasado el tiempo, se filtró y se dividió en tres tubos, por último se le agregó 3 gotas a cada tubo respectivamente marcado a las pruebas, de los reactivos de Dragendorff Wagner y Mayer. Este procedimiento fue realizado bajo campana de flujo laminar. La presencia de alcaloides forma precipitados característicos de color anaranjado y blanco.

- **Determinación de Triterpenos/Esteroles:** el extracto fue dispuesto en un tubo seco y se le agregó diclorometano hasta cubrirlo completamente, se mezcló y se le añadió 0,5 mL de anhídrido acético concentrado y luego cuidadosamente por las paredes del tubo se le adicionó 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La reacción es positiva para esteroides si aparece una coloración azul verdosa y color rojo, rosado o púrpura para triterpenos.
- **Reconocimiento de compuestos fenólicos:** al extracto disuelto en agua se le añadió unas gotas de cloruro férrico al 1 %, la formación de colores indica la presencia de compuestos fenólicos: de azul a negro derivado del ácido gálico y coloraciones verdes indica derivados del catecol.
- **Identificación de taninos:** se realizó mediante la reacción con gelatina al 1 %, para ello al extracto disuelto en agua en un tubo, se le colocó 2 gotas del reactivo de gelatina. La formación de un precipitado blanco indica la presencia de taninos.
- **Determinación de flavonoides:** se usó la prueba de Shinoda y la reacción de hidróxido de sodio al 10 %, para lo cual se solubilizó cada

extracto en su solvente de origen. Para la prueba de Shinoda, se agregaron virutas de magnesio, seguidas por 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado y se observaron los cambios en la coloración; en esta prueba la coloración roja indica la presencia preliminar de flavonoides. Por otra parte, para la reacción de hidróxido de sodio al 10 % se adicionaron 0,5 mL en gotas de hidróxido de sodio al 10 % y se observó los cambios en la coloración, el cambio del color amarillo a rojo indica la presencia de xantonas y flavonas; de café a naranja de flavonoles; de purpura a rojizo de chalconas y azul de antocianinas.

- **Identificación de saponinas:** se prepararon soluciones acuosas de los dos extractos etanolicos en tubos, los cuales se agitaron vigorosamente durante 1 minuto y se observó si se producía la formación de espuma
- **Detección de quinonas y antraquinonas:** pequeñas porciones de los extractos fueron dispuestos por separado en capsulas de cerámica y se les adiciono una gota de hidróxido de amonio concentrado para determinar la presencia de antraquinonas, la formación de una coloración roja en los primeros 2 minutos indica la presencia de Antraquinonas. Luego para la identificación de quinonas se realizó el mismo procedimiento anterior para antraquinonas, pero esta vez se le adiciono una gota de ácido sulfúrico (H_2SO_4), la formación de una coloración roja indica la presencia de Quinonas.
- **Presencia de cumarinas:** cada uno de los extractos fue disuelto en su solvente miscible (etanol) a los cuales se les adiciono una gota de hidróxido de amonio y se llevaron bajo luz ultravioleta para observar si

hubo fluorescencia, una coloración azul-violeta indica la positividad de la prueba.

Evaluación de la Actividad Antifúngica de los Extractos

El estudio de la actividad antifúngica se realizó mediante el método de difusión en disco o método de Kirby-Bauer anteriormente descrito, probando cada extracto a una concentración determinada frente a cepas de *Candida* de referencia internacional.

Materiales utilizados:

- Extractos de Hexano y de Etanol de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense*
- Cepas de referencia internacional ATCC de *Candida albicans* y *Candida krusei*
- Discos de papel de filtro (6 mm)
- Discos de Fluconazol de 25 ug (Control Positivo)
- Discos de Voriconazol de 25 ug (Control Positivo)
- Solvente DMSO (Control negativo)
- Medio de cultivo Agar Mueller Hinton con 2% de glucosa.

Procedimiento

- 1) Preparación de las placas de Petri empleando el medio de cultivo agar Mueller Hinton modificado (HIMEDIA®) el cual se suplemento con 2% de glucosa y azul de metileno (NCLS, 2004). Para ello, a cada placa se

le agregaron 20 mL del medio de cultivo antes mencionado, se dejaron solidificar y se conservaron a 4° C.

- 2) Se procedió a preparar el inóculo a partir de cepas frescas (24 horas), mediante una suspensión ajustada al patrón 1 Mc Farland (1×10^8 UFC/mL) en solución salina estéril.
- 3) Luego se esterizaron los discos de papel de filtro por 1 hora en luz UV y una vez estériles fueron impregnados con 20 μ L del extracto a ensayar, así como con el solvente DMSO utilizado como control negativo.
- 4) Seguidamente se realizó la inoculación de las placas de Petri para lo cual a las placas, previamente preparadas con el medio de cultivo seleccionado, se les realizó la siembra del inóculo correspondiente a cada cepa fúngica y luego se colocaron sobre estas los discos impregnados con los extractos, con el solvente DMSO (control negativo) y los discos de Fluconazol y Voriconazol (control positivo).
- 5) Una vez colocados los discos, se dejaron las placas a temperatura ambiente durante 20 minutos, luego se llevaron a 4° C durante 4 horas para permitir la difusión de los extractos y finalmente se incubaron a 37° C por 24 horas.
- 6) Transcurrido el tiempo de incubación, se realizó la lectura del ensayo mediante la observación de la presencia o no de halos de inhibición alrededor de los discos, siendo estos medidos en milímetros (mm).
- 7) El estudio se realizó por duplicado para corroborar la veracidad de los resultados obtenidos.

Diseño de Análisis

Los enfoques que se utilizaron para el análisis de los datos fueron cuantitativos y cualitativos. El enfoque cuantitativo fue utilizado en la recolección y el análisis de datos para contestar preguntas de investigación y probar hipótesis establecidas previamente; en éste estudio, los datos de esta naturaleza estuvieron dados por la actividad Antifúngica mediante la medición de la ausencia y presencia de los halos de inhibición. Por otro lado, el enfoque cualitativo estuvo basado en métodos de recolección de datos sin medición numéricas, utilizando las descripciones y observaciones, este enfoque estuvo dado por el ensayo fitoquímico y sus diferentes pruebas.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

Se recolectaron 1700 gramos de frutos de *Solanum quitoense*, los cuales fueron sometidas a secado y molienda, obteniéndose un peso de 69,04 gramos de corteza y 41,91 gramos de pulpa, este material vegetal se llevó a extracción por separado, con disolventes de distintas polaridades como: hexano y etanol. Luego de la etapa de extracción, se realizó la concentración de los extracto hasta sequedad y se obtuvieron cuatro extractos: dos extractos de la corteza (hexanólico y etanólico) y dos extractos de la pulpa (hexanólico y etanólico). Posteriormente, se calculó el porcentaje de rendimiento de cada extracto (tabla N°5).

Para la determinación del porcentaje de rendimiento (%R) se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% R = \text{Peso final del extracto obtenido} / \text{Peso inicial de la muestra} \times 100$$

Tabla 5. Determinación del porcentaje de rendimiento de los extractos de de la corteza y la pulpa de los frutos de *Solanum quitoense*.

Peso Muestra inicial	Extracto de Hexano	% de Rendimiento	Extracto de Etanol	% de Rendimiento
Corteza seca y molida 69,04 g	1,24 g	1,79 %	3,49 g	5,05 %
Pulpa seca y molida 41,91 g	1,35	3,22 %	8,18	19,51 %

Elaborado por Echeverría y Hernández (2023).

Análisis fitoquímico Preliminar

El análisis fitoquímico de los extractos obtenidos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense*, se realizó cualitativamente mediante pruebas químicas. Los mismos se colocaron en contacto con diversos reactivos químicos y se observaron las reacciones de coloración o precipitación características de cada prueba pudiendo así determinar la presencia de ciertos metabolitos secundarios.

A través de éste análisis cualitativo se comprobó la presencia de alcaloides, triterpenos, esteroides, saponinas, taninas, flavonoides y quinonas (tabla N° 6 y 7).

Tabla N° 6. Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense*

Metabolitos	Pruebas químicas	EHC	EEC	EHP	EHP
Alcaloide	Dragendorff	-	+	+	+
	Wagner	-	+	+	+
	Mayer	-	+	+	+
Triterpenos/- esteroles	Liebermann –Burchard	+	+	+	+
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	ND	+	ND	-
Saponinas	Espuma	ND	+	ND	-
Taninos	Gelatina 1%	ND	+	ND	+
Flavonoides	Shinoda	-	-	-	-
	NaOH al 10%	-	+	-	+
Cumarinas	Hidróxido de amonio concentrado NH ₄ OH [1]	-	-	-	-
Antraquinonas	Hidróxido de amonio concentrado NH ₄ OH [1]	-	+	-	+
Quinonas	Ácido sulfúrico concentrado H ₂ SO ₄ [1]	-	+	-	+
EHC: Extracto de hexano corteza EEC: Extracto etanol corteza EHP: Extracto hexano pulpa EEP: Extracto etanol pulpa ND: No determinado					

Elaborado por Echeverría y Hernández (2023).

Tabla N° 7. Reporte ilustrado de los resultados positivos del ensayo fitoquímico de los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense*.

PRUEBA	REPORTE
	<p>Prueba: Liebermann-Burchard</p> <p>Metabolito determinado: Triterpenos/Esteroles</p> <p>Reporte: Positivo para Triterpenos/Esteroles en los extractos de la corteza y la pulpa (EHC, EEC, EHP, EEP).</p>
	<p>Prueba: Cloruro férrico</p> <p>Metabolito determinado: Compuestos fenólicos</p> <p>Reporte: Positivo el extracto de etanol de la corteza (EEC) coloración negro.</p>

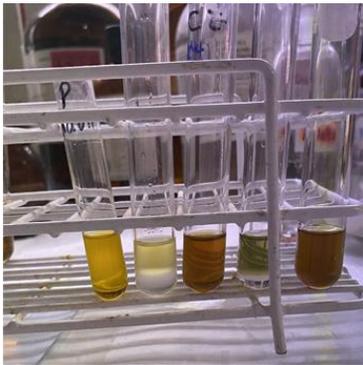
Elaborado por Echeverria y Hernandez (2023).

Tabla N° 7. Reporte ilustrado de los resultados positivos del ensayo fitoquímico de los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* (Continuación).

PRUEBA	REPORTE
	<p>Prueba: Espuma</p> <p>Metabolito determinado: Saponinas</p> <p>Reporte: Positivo para el extracto de etanol de la corteza (EEC) con formación de espuma al agitar.</p>
	<p>Prueba: Gelatina al 1%</p> <p>Metabolito determinado: Taninos</p> <p>Reporte: Positivo para ambos extractos de etanol de la corteza y pulpa (EEC y EEP).</p>

Elaborado por Echeverria y Hernandez (2023).

Tabla N° 7. Reporte ilustrado de los resultados positivos del ensayo fitoquímico de los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* (Continuación).

PRUEBA	REPORTE
	<p>Prueba: NaOH al 10%</p> <p>Metabolito determinado: Flavonoides</p> <p>Reporte: Positivo los extractos etanolicos de la corteza y pulpa (color marrón)</p>
	<p>Prueba: Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 [])</p> <p>Metabolito determinado: Quinonas</p> <p>Reporte: Positivo para los extractos de etanol de la corteza y pulpa (coloración rojiza).</p>

Elaborado por Echeverria y Hernandez (2023).

Evaluación de la Actividad antifúngica

Se determinó a través del método de difusión en disco en agar (Kirby - Bauer) a los cuatro extractos de corteza y pulpa, correspondiente a los solventes hexano y etanol y posteriormente diluidos con dimetilsulfóxido (DMSO) en concentraciones madres de 10.000 ppm (10 mg/mL) y se probó su efecto frente a las cepas de *Candida* de referencia internacional: *Candida albicans* ATCC 14053 y *Candida krusei* ATCC 6258. Los resultados de la actividad antifúngica se muestran a continuación (tablas N°8 y N°9).

Tabla N° 8. Resultados obtenidos en la determinación de la actividad antifúngica de los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense*

<i>Muestras ensayadas</i>	<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258
Extracto de hexano de la corteza	0 mm	0 mm
Extracto etanolico de la corteza	0 mm	0 mm
Extracto de hexano de la pulpa	0 mm	0 mm
Extracto etanolico de la pulpa	0 mm	0 mm

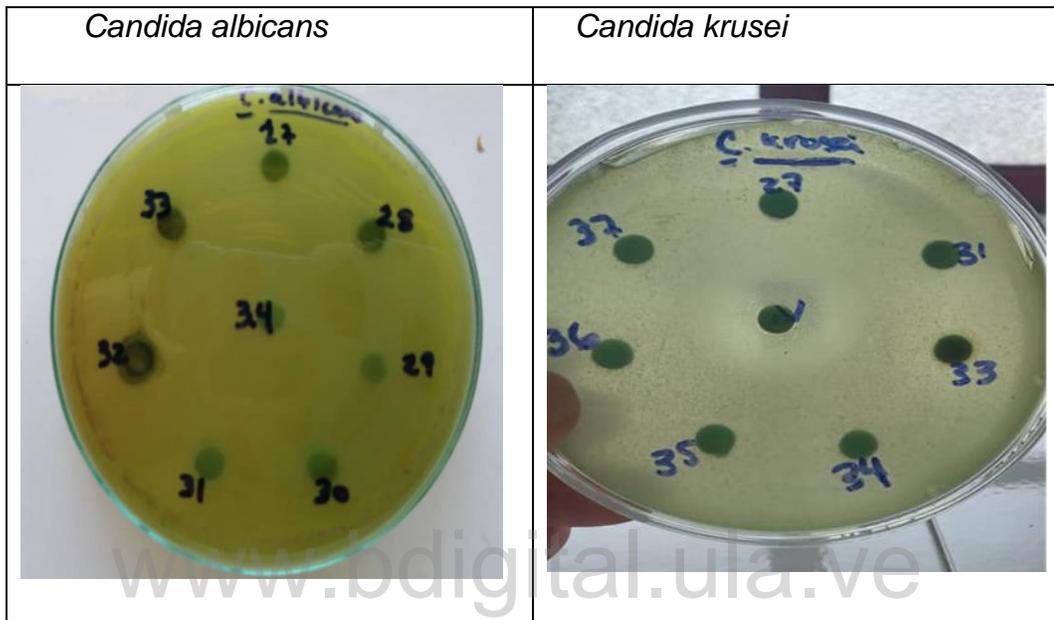
Elaborado por Echeverria y Hernandez (2023).

Tabla N° 8.- Resultados obtenidos en la determinación de la actividad antifúngica de los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* **(Continuación).**

Controles positivos	<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258
Discos de fluconazol 25 µg	≤2	-
Discos de Voriconazol 25 µg	≤ 0,12	≤ 0,5
Controles negativos		
Solvente (DMSO)	0 mm	0 mm

Elaborado por Echeverría y Hernández (2023).

Tabla N° 9.- Reporte ilustrado de los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* (Muestras 34, 35, 36 y 37).



Elaborado por Echeverría y Hernández (2023).

Discusiones de resultados

En la presente investigación se obtuvieron mediante extracción por reflujo, extractos de hexano y etanol de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense*, dichos extractos evidenciaron a través de las pruebas químicas cualitativas la presencia de algunos metabolitos secundarios como: compuestos fenólicos y saponinas en la corteza, y tanto en la corteza como en la pulpa: alcaloides, triterpenos, taninos, flavonoides, y quinonas (tablas N° 6). En cuanto al estudio de la actividad antifúngica, este fue realizado posterior al

tamizaje fitoquímico a través del método de difusión del disco en agar (Kirby-Bauer), pudiendo determinar que dichos extractos ensayados no presentaron actividad frente a las cepas de referencia internacional (ATCC) *Candida albicans* y *Candida krusei* a la concentración empleada en el estudio (10 mg/mL) y mediante este método. Los resultados de ambas variables se correlacionan con lo determinado en estudios de otras especies del mismo género (*Solanum*) recolectadas en países diferentes.

El estudio realizado por Mendoza, Fuertes y Jahuirra (2022), demostró que el extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* Pers contiene metabolitos bioactivos como alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, esteroides, flavonoides y saponinas, lo cual coincide con lo hallado en esta investigación en los extractos analizados de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense*. No obstante, dichos autores obtuvieron resultados diferentes en el análisis de su actividad antifúngica realizada mediante el método de difusión en pozo de agar, puesto que el extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* Pers. arrojó resultados de sensibilidad intermedia a una concentración de 25 mg/mL frente a cepas de hongos entre las que se encontraba *Candida albicans*, mientras que en la presente investigación los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* no arrojaron resultados favorables frente a cepas de *Candida albicans* y *Candida krusei* por el método de difusión en disco a una concentración de 10 mg/mL. De igual forma, Ferrer y cols (2021), confirmaron la presencia de compuestos químicos en los extractos etanólicos de los tallos y frutos de *Solanum crinitum* tales como: alcaloides, flavonoides, taninos condensados, saponinas, triterpenos y esteroides en ambas partes de la planta, posibles responsables de su actividad microbiológica al presentar actividad contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* a una concentración de 30 mg/mL por el método de difusión en disco. Sin embargo, al igual que en la presente investigación, ambas especies no

mostraron presentar actividad antifúngica empleando el mismo método (difusión en disco) para el estudio de la misma.

Así mismo, Yu y cols (2019) en su trabajo de investigación sobre la actividad antifúngica de extractos glicolados de la corteza de *Solanum tuberosum* L (patata blanca) contra *Candida* y especies de *Aspergillus*, tampoco obtuvieron resultados relevantes en el análisis de su actividad antifúngica a una concentración de 166,67 mg/mL de los extractos por el método de concentración mínima inhibitoria frente a especies del género *Candida*, entre las cuales se encontraban *Candida albicans* y *Candida glabrata*, además de otras especies fúngicas como *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus niger*, mas sin embargo si mostró inhibición del crecimiento de *Aspergillus flavus* con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 104,17 µg/mL.

Por otra parte, Sharma, Sharma y Gupta (2021) obtuvieron resultados contrarios a los hallados en esta investigación, al evaluar la actividad antifungica *in vitro* del extracto metanolico de raíz de *Solanum surattense*, puesto que este extracto si tuvo la capacidad de formar halos de inhibición del crecimiento de especies de *Candida* incluyendo *C. albicans* y *C. krusei* a través del metodo de difusión en pozos de agar probando los extractos a diferentes concentraciones (20, 40, 60 y 80 mg/mL), siendo el extraco de mayor concentración (80 mg/mL) el que demostró mejor actividad contra *Candida albicans*. Estos resultados favorables para la especie *Solanum surattense* concuerdan con los obtenidos posteriormente por Sana y cols (2022) quienes empleando el mismo método y concentraciones distintas del extracto (30, 40 y 50 mg/mL) para la determinación de su actividad biológica, determinaron que el extracto etanolico de la raíz de esta planta presenta actividad antifungica no solo contra especies de *Candida* sino también contra *Malassezia* al obtener efectos inhibidores a una concentración de 50 mg/mL con halos de inhibición

de 12,1 mm, demostrando que esta especie del genero *Solanum*, al cual pertenece también *Solanum quitoense*, posee una actividad importante contra hongos oportunistas.

Por consiguiente, en base a las discusiones de resultados presentada para diferentes especies del genero *Solanum* en relación a la especie estudiada en esta investigación, *Solanum quitoense*, se pudo inferir que los resultados no favorables en la evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de la corteza y pulpa de sus frutos, a pesar de tener una composición química importante rica en metabolitos secundarios, pudieron deberse al método utilizado para su análisis (método de difusión en disco), puesto que al impregnar los extractos en ensayo en discos de papel de filtro, los metabolitos secundarios de interés y capaces de conferirle esta bioactividad pudieron quedar retenidos en el mismo y no difundir en el medio de cultivo inoculado con la cepa fúngica, esto además explicaría el porqué de los resultados positivos obtenidos en las investigaciones que emplearon métodos diferentes a este. Adicionalmente, la concentración de los extractos probada en esta investigación pudo haber sido inferior a la necesaria para actuar inhibiendo a los microorganismos utilizados en el ensayo, puesto que las investigaciones que emplearon concentraciones altas de los extractos fueron las que obtuvieron mejores resultados en la evaluación de su actividad.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- La composición química de los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* fue analizada cualitativamente mediante el tamizaje fitoquímico logrando la determinación de compuestos como: alcaloides, triterpenos, esteroides, compuestos fenólicos, saponinas, taninos, flavonoides y quinonas, los cuales predominaron en los extractos etanolicos de ambas partes de los frutos de *Solanum quitoense*, siendo los extractos etanolicos de la corteza, la parte del fruto con mayor cantidad de metabolitos secundarios aislados.
- La evaluación de la actividad antifúngica de los extractos frente a cepas de *Candida* de referencia internacional se realizó a través del método de difusión del disco en agar a una concentración de 10 mg/mL, pudiendo evidenciar que estos no presentaron inhibición del crecimiento de *Candida albicans* y *Candida krusei*. Por lo tanto no se logró demostrar la presencia de actividad antifúngica de los mismos frente a estos microorganismos.
- Esta investigación represento el primer estudio realizado en el Estado Mérida-Venezuela sobre la composición química y actividad antifúngica de los frutos de *Solanum quitoense* en cepas de referencia internacional, siendo además de las pocas investigaciones sobre dicha actividad biológica en esta especie vegetal.

Recomendaciones

- Analizar la actividad antifúngica de los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* empleando un método distinto al seleccionado para esta investigación, pudiendo obtener resultados más confiables sobre la presencia de esta propiedad en la especie.
- Llevar a cabo la obtención de extractos vegetales de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* empleando solventes y métodos de extracción distintos a los usados en esta investigación, con el fin de aislar e identificar diversos metabolitos secundarios que pudieran conferirle mayor actividad biológica.
- Utilizar como espécimen vegetal para la obtención de los extractos, partes diferentes de la planta tales como: Hojas, tallos y raíces, lo cual permita identificar otros metabolitos secundarios.
- Ampliar estudios sobre la actividad antifúngica de los extractos de la corteza y pulpa de los frutos de *Solanum quitoense* utilizando otras cepas de hongos distintas a las utilizadas en esta investigación, lo cual permitirá ampliar el conocimiento sobre la presencia de esta actividad biológica en la especie vegetal.
- Analizar si los extractos de los frutos de *Solanum quitoense* presentan otro tipo de actividad biológica como antibacteriana, antiparasitaria, antiinflamatoria o antioxidante. Haciendo referencia principalmente en el estudio de la actividad antioxidante, dado que existen diversos estudios previos que afirman que esta especie presenta una gran capacidad antioxidante la cual pudiera ser aprovechada para la realización de futuras investigaciones en el área de productos naturales.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- Acosta, O., Pérez, A., y Vaillant, F. (2009). Chemical caracterización, antioxidant properties and volatile constituents of naranjilla (*Solanum quintoense* Lam.) cultivated in Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59 (1), 88- 94.
- Ahumada, A., Ortega, Chito, D., y Benitez, R. (2016). Saponinas de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.): un subproducto con alto potencial biológico. Departamento
- Aguilar, I. (1999). Contenido de Solanidina, α -Solanina y α -Chaconina, en tubérculo y follaje de parentales y retrocruzas de *Solanum tuberosum*, 9+seleccionados por su calidad y resistencia a *Phytophthora infestans* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Autónoma de México. Iztacala-México.
- Alarcón, L., Usubillaga, U., y Velasco, Y. (2006). Contribución al estudio de los alcaloides esteroidales del *Solanum Hypomalocophyllum* Bitter y del *Solanum Sycophanta* Dunal et DC. *Revista Latinoamérica de Química*, 34 (1-3), 13 -21.
- Almeyda, A. (2017). *Estudio de la Acumulación de Ácido Betulínico y Urechitol A durante el Desarrollo de Pentelinon Andrieuxii Y su Relación con la Metilación de ADN* (tesis de postgrado). Centro de Investigación Científica de Yucatán, México.
- Ávalos, A., y Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de las plantas. Departamento de Biología Vegetal. España: Universidad Complutense de Madrid.

- Álvarez, E., Isaza, G., Acosta, S., y Yepes, A. (2005). Actividad antimicótica de *Phenax rugosus* (Lam) Pers y *Baccharis trinervis* (SW) Wedd. *Rev. Biosalud*, 14, 38-45.
- Álvarez, L., Pérez, L., Gonsalez, J., Navarro, V., Villarreal, M., y Olson, J. (2001). SC – 1 An antimycotic spirostansaponin from *Solanum chrysotrichum*. *Planta médica*, 67 (4), 372- 374.
- Alves, C., De Silva, T., Alves, K., De Carvalho, M., Braz-Filho, R., y Agra, M. (2004). Solasonin And flavonoids Isolated from *Solanum crinitum* Lam. *Revista Brasileira de Farmacia*, 85 (2), 57-59.
- Angulo, R. (2006). *Lulo: El cultivo*. Colombia: Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano.
- Arias, F (2004). *El proyecto de la investigación. Introducción a la metodología científica*. Caracas, Venezuela: Episteme.
- Arias F. (2006). Conceptos Básicos de Muestreo. *El Proyecto de Investigación. Introducción a la metodología científica. 5ta ed.* Caracas: Episteme.
- Beltrán, C., Díaz, F. y Gómez, H. (2013). Tamizaje fitoquímico preliminar de especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(4), 619-631.
- Benítez, C., y Medina, B. (2001). Novedades en Solanaceae para Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica*, 24 (2), 133-141.
- Benitez, C. (1997). Diversidad de las Solanaceae en los Andes de Venezuela. *Acta botánica de Venezuela*, 20(1), 81-92.
- Borja, E. (2019). *Actividad antifúngica de los extractos de plantas Croton lechleri y Maytenus laevis en cepas de Candida albicans ATCC 10231*. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Ambato, Perú.

- Boyd, J., Murray, D., y Tyrl, R. (1984). Silverleaf Nightshade, *Solanum elaeagnifolium*, Origin, Distribution and Relation to Man. *Economic Botany*, 38(2), 210-217.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales*. Segunda edición. Zaragoza, España: Acribia.
- Buendía, L., Colás, P., y Hernández, F. (1998). *Métodos de investigación en psicopedagogía*. Madrid, España: McGraw-Hill.
- Cardenas, O., Martin, D., Martin, R., & Pacheco, J. (2017). *Actividad antifúngica de extractos polares de Solanum dolichosepalum contra Fusarium oxysporum y evaluación de su capacidad antioxidante* (Tesis de pregrado). Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
- Carey, F. (2003). *Química orgánica*. Quinta edición. México: Mc. Graw-Hill.
- Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N., y Rueda, N. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnos schultesiana krukoff*). *Revista colombiana forestal*, 12,161-170.
- Castillo, B., Cajas, M., Montoya, S., y García, F., (2022). Actividad antioxidante, polifenoles totales y tamizaje fitoquímico de Chilangua (*Eryngium Foetidum*). *Rev. Reciamuc*, 6(3).
- Castro, H., y Ledea O. (2011). Determinación de la Bioactividad *in vitro* de la Polipapatita. *Research Gat*, 12(1), 30-34.
- Contreras, A. (2008). Uso de Especies Silvestres Cultivadas en el Mejoramiento de la Papa. *Rev. Agro Sur*, 36(3), 115-129. <http://revistas.uach.cl/pdf/agrosur/v36n3/art01.pdf>

- Costa, P., Leitao, E., Ramalho, R., Scotti, L., Rocha, M., Queiroz, A., Sctotti, M. (2018). Cribado virtual de metabolitos del género *Solanum* con potencial antimicrobiana. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28 (6).
- Dabur, R., Singh, H., Chhillar, A., Ali, M., y Sharma, G. (2004). Antifungal potential of Indian medicinal plants. *Fitoterapia*, 75(3-4), 389-91. Doi: 10.1016/j.fitote.2004.01.015.
- Das, J., Lahan, J., y Srivastava, R. (2010). *Solanum melongena*: A potential source of antifungal agent. *Indian J Microbiology*, 50(1), 62-69. Doi: 101007/s12088-010-0004-2.
- Dominguez, X. (1979). *Metodos de investigación Fitoquímica*. México: Editorial Limusa.
- Escobar., N. (2012). *Estudio Microbiológico Y Evaluación De La Actividad Antibacterial Del Aceite De Semilla De Solanum Quitoense (Lulo), Variedad La Selva* (Tesis de pregrado). Universidad tecnológica de Pereira, Colombia.
- Ferrer, A., Bioni, C., Pereira, A., Araujo, P., Da silva, N y Aiardes, M. (2021). Estudio fitoquímico preliminar de *Solanum crinitum* Lam. (Familia Solanaceae) y análisis de su actividad microbiológica. *Revista cubana de plantas medicinales*, 26(1), 1-16. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2021/cpm211c.pdf>
- Forero, D., Orrego, C., Grant Peteron, D., y Osorio, C. (2014). Chemical and sensory comparison of fresh and dried Lulo (*Solanum quitoense* Lam) fruit aroma. *Food Chemistry*. Doi:10.1016/j.foodchem.2014.07.111

- Franco, D., Pereira, T., Vitorio, F., Nadur, N., Lacerda, R., y Kummerle, A. (2021). La Importancia De Las Cumarinas para la Química Medicinal Y el Desarrollo de Compuestos Bioactivos En Los Últimos años. *Chem. Nova*, 44(2). <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170654>
- García, J., Cantón, R., García, J., Gómez, M., Martínez, L., Rodríguez, C., y Villa, J. (2000). Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. España: Sociedad Española de Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. Recuperado de: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
- Galbis, J. (2004). *Panorama actual de la química farmacéutica*. España: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla.
- Garhewall, S., Shiv, G., y Wast, N. (2014). Anti-fungal activity fo *Solanum xanthocarpum* (kantkari) leaf extract. *World Journal of Zoology*, 9(2):111-4. Doi: 10.5829/idosi.wjz.2014.9.2.83310.
- Gasaly, N., Riveros, K., y Gotteland, M. (2020). Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos. *Revista chilena de nutrición*, 47(2), 317-327. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182020000200317>
- Gómez, F., Trejo, L., García, J., Cadeña, J. (2014). Lulo (*Solanum quitoense* Lamarck) como cultivo novedoso en el paisaje agroecosistémico mexicano. *Rev. Mex. Cienc. Agric*, 5(9),1741-1753. Doi: <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i9.1061>
- González, M., Zamilpa, A., Marquina, S., Navarro, V., Alvarez, L. (2004). Antimycotic spirostanol saponins from *Solanum hispidum* leaves and

- their structure-activity relationship. *J Nat Prod*, 67(6), 938-41. Doi: 10.1021/np0305019.PMID:15217270.
- Grayer R., y Harborne, J. (1994). A Survey of Antifungal Compounds from Higher Plants. *Phytochemistry*, 37(1), 19-42.
- Gregori, B. (2005). Estructura y actividad de los antifúngicos. *Rev. Cubana Farmacología*, 39(2), 1.
- Grierson, O., Afolayan, A., Aliero, O., y Asekun, D. (2007). Volatile components from the roots of *Solanum pseudocapsicum*. *Journal of medical Food*, 10 (3), 557-558.
- Gutierrez, J., Luna, L., Mendoza, M., Díaz, G., Burguete, J., Guzmán, F. (2015). Organización, mantenimiento y preservación de la Colección de Cultivos Bacterianos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 35(1), 95-102. <https://ve.scielo.org/pdf/rsvm/v35n2/art07.pdf>
- Hager, J., Mir, M., y Hsu, S. (2010). *Candida krusei* funguemias in an inmunocompromised patient. *Dermatológica Online*, 16(4), 4-9.
- Hartwell, J. (1970). Plants used againsts cáncer: A survey. *Rev. Lloydia*, 33 (1): 97- 164.
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, M. (2010). *Metodología de la Investigación*. México: McGraw Hill.
- Hernández, S., Collado, C, Batista, M. (2010). *Metodología de la investigación*. México: McGraw-Hill.
- Herrera, A., Rodríguez, A., Martínez, M., Martínez, E, Zamilpa, A., y Alvarez, L. (2003). Effectiveness and tolerability of a standardized phytodrug

derived from *Solanum chrysotrichum* on *Tinea pedis*: a controlled and randomized clinical trial. *Planta Med*, 69(5),390-398.

Horna, G., Silva, M., Vicente, W., y Tamariz, J. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de Ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Rev Med Hered*; 16(1), 69-81.

Hostettamann, K., y Marston, A. (1995). *Chemistry and pharmacology of natural products: Saponins*. London: Cambridge University Press.

Hurtado, J. (2010) *Metodología de la investigación. Guía para la comprensión holística de la ciencia. 4ta.ed.* Caracas: Ediciones Quirón.

Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer. Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology.

Ingraham, J., Ingraham, C. (1998). Introducción a la microbiología. II. España: Editorial Reverte.

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2007). *Cultivo de diversificación para pequeños productores de frijol y maíz en América central: naranjilla (lulo) y cocona*. Recuperado de <https://repositorio.iica.int/handle/11324/11897>

Jiang, K., Jones, P., y Shekar, R. (2006). Severe soft tissue abscess caused by *Candida krusei*. *Rev. Practica de infectología Clínica*, 14 (3):166-167.

Jiménez, G., Ducoing, H., Sosa, M. (2009). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*; 21 (3), 26-34.

- Jones, V. (1941). The nature and state of Ethnobotany. *Chronica botanica*; 6:219-221.
- Knapp, S., Bohs, L., Nee, M., y Spooner, D. (2004). Solanancea a model for linking genomics with biodiversity. *Rev. Comparative and Functional Genomics*, 285-291.
- Kusano, G., y Beisler, J. (1973). Steroidal constituents of *Solanum Xanthocarpum*. *Phytochemistry*, 12 (2), 397-401.
- Lamarmaque, A., Zygadlo, J., Labucas, D., López, L., Torres, L., y Maestri, D. (2008). *Fundamentos teóricos prácticos de Química Orgánica*. Editorial Brujas.
- Lim, T. (2012). *Edible medicinal and non- medicinal plant*. México: Springer Science & Business Media.
- Long, J. (2001). Una semblanza de las Solanaceae. *Rev. Etnobiología*, 1(1), 18-24.
- López, K., Dzul, K., Lugo, C., Arias, J., Zabala, J. (2016). Mecanismo de resistencia antifúngica de los Azoles en *Candida albicans*. Una Revisión. *Rev biomédica*, 27(3), 127-136. Doi: <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v27i3.541>
- Loyola, V., Sanchez, P., Canto, B., Gutierrez, L., Galaz, R., y Moreno, O. (2004). Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica. *Revista de la Sociedad Química de Mexico*, 48(1). http://www.scielo.org.mx/scielo=sci_arttext&pid=S0583-76932004000100013

- Lozoya, X., Navarro, V., García, M., y Zurita, M. (1992). *Solanum Chrysotrichum* (Schldl) a plant used in México for the treatment of skin mycosis. *J. Ethnopharmacol*, 36 (2), 127-132.
- Marcano, D., y Hasegawa, M (2002). *Fitoquímica orgánica* Caracas-Venezuela: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela.
- Marqu ez, D., y Suar ez, A. (2008). El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(16), <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1090&context=mv>
- M endez, C., García, E, y Martin, E. (2019). Actualización de los métodos de estudio de sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 37(1), 15-25.
- Mendoza, J., Fuertes, C., Jahuirra, M. (2022). Análisis fitoquímico preliminar y actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* pers. Colectadas en la localidad Obraje-Perú. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*, 39(3). Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v39n3/1726-4642-rins-39-03-321.pdf>
- Mendoza, M. (2005). Importancia de la identificación de levaduras. *Rev. Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25 (1), 15-23.
- Mellado, E., Cuenca, C., y Rodríguez, J. (2002). Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los Hongos filamentosos a los antifúngicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 20 (10), 523-530.

- Mesa, A., Bueno, J y Betancur, L. (2004). Productos con actividad antimicótica. *Rev Esp Quimioterap*, 17(4), 325-331.
- Mohan, M., Jaiswal, B., y Kasutre, S.(2009). Effect of *Solanum Torvum* on blood pressure and metabolic alterations in fructose hypertensive rats. *Journal of ethnopharmacology*, 126 (1), 86-89.
- Mosquera, O., Echeverri, L., y Osorio, J. (2009). Evaluación de la Actividad antifúngica sobre el hongo *Mycosphaerella fijiensis morelet*. *Rev. Ciencia y tecnología*; 41 (1), 232-236.
- Muñoz, J. (2011). Análisis de la competitividad del sistema de producción de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) en tres municipios de Nariño. Tesis de magister en ciencias agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Murillo, G., y Rodríguez, A. (2021). Claves dicotómicas para las especies de *Solanum* (Solanaceae) en México. *Rev. Bot Sci*, 99 (2), 413-446 Doi: <https://doi.org/10.17129/botsci.2713>
- Narváez, S., Gómez, L., y Martínez, M. (2008). Selección de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos aislados a partir de sedimentos del Caribe colombiano. *Boletín Invermar*, 37(1), 18-26.
- Obregón, J., Arias, C., López, M., Bracamonte, M., y Limaymanta, A. (2021). Compuestos nutricionales y bioactivos de *Solanum quitoense* Lam (Quito quito), fruta nativa de los andes con alto potencial de nutrientes. *Revista Tecnología Química*; 41(1). 11-14.
- Olmstead, R., Sweere, J., Spangler, R., Bohs, L., y Palmer J. (1999). Phylogeny and provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast DNA. *The Royal Botanic Gardens*, 10(2), 111- 137.

- Ojeda, C., y Gonzales, R. (2019). Estudio fitoquímico de Lulo (*Solanum quitoense*), Bioprospección en la búsqueda del desarrollo de nuevos productos de síntesis (Tesis de pregrado). Universidad EAN, Bogotá-Colombia.
- Orosco, C., Beltrán, G., Porras, N., y Nee, M. (2008). Listado de especies espinosas de *Solanum* L. (Leptostemonum, Solanaceae). *Rev. Biota Colombiana*, 239 – 249.
- Ortigoza, E., y Arroyo, D. (2014). Susceptibilidad in vitro de las especies de *Candida* a los antifúngicos en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional de Occidente. *Med Int Méx.* 30(1), 373-380. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2014/mim144c.pdf>
- Parella, S., Martins, F. (2012). *Metodología de la investigación cualitativa*. 2da ed. Caracas-Venezuela: FEDUPEL.
- Panizo, M., y Reviakina, V. (2001). *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 21(2), 25-38.
- Pardi, G., y Cardozo, E. (2002). Algunas consideraciones sobre *Candida Albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. *Acta Odontológica Venezolana*, 40(1), 9-17.
- Pérez, A., y Rojas, L. (2013). *Farmacología y Fitoquímica del género Solanum (Solanaceae)*. España: Académica Española.
- Pérez, A., Rojas, L., Arias, E., Carmona, J., y Usubillaga, A. (2010). Analysis of chemical constituents of the volatile oil from *Solanum bicolor*. *Natural products communications*, 5 (4), 615-616.

- Pérez, M., Batlle, M., Verdera, J., y Llop, A. (2006). Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* procedentes de pacientes con fibrosis quística. *Rev Cubana Med Trop*, 58(3).46-63.
- Peñaloza, G., y Peláez, C. (2017). Aislamiento del Estigmasterol de las semillas de *Crotalaria juncea* L. (cascabelito) y su bioactividad sobre *Drosophila melanogaster*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 22(3).<https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/rt/printeFriendly/537/261>
- Pontón, J. (2008). La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. *Rev Iberoamicol*, 25: 78-82.
- Puelles, O. (2020). Efecto del zumo *Solanum quitoense* (lulo) sobre el daño cerebral inducido por cloruro de mercurio y función cognitiva en ratones (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, España.
- Ramirez, F. (2021). Notes about Lulo (*Solanum quitoense*): an important South American underutilized plant. *Rev, Genetic Resources And Crop Evolution* 68, 93-100. Doi: <http://doi.org/10.1007/s10722-020-01059-3>
- Ramirez J, Garcia C, Vizcaino J, Cardenas J, Gutierrez F, Murga H, Villagran S. ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes? *Revista De Divulgación Científica Y Tecnológica De La Universidad Veracruzana* 2012; 25 (2)
- Ramón, J., Galeano G. (2020). Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de plantas del genero *Solanum*. (Tesis de postgrado). Universidad de la Amazonia, Colombia.
- Rengifo, R. (2013). Cuantificación de flavonoides en el extracto etanólico de propóleos. *Pharmaciencia*, 1(2), 51-56.

- Revelo, J., Viteri, P., Vásquez, W., Valverde, F., León, J., Gallegos, P. (2010). Manual del cultivo ecológico de la naranjilla. INIAP- Estación Experimental Santa Catalina. Recuperado de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4907/1/iniapscmt77.pdf>
- Rodríguez, A. (2011). Taxonomía de Bloom (Tesis de pregrado). Universidad Cesar Vallejo, Perú.
- Sana, N., Shaheen, R., Sharif, A., Kalsoom, S., y Nasreen, Z. (2022). Antibacterial and Antifungal Activities of *Acacia modesta*, *Achyranthes saspara* and *Solanum surattense* used in Folk Medicine. *Rev Biol. Res. Appl. Sci*, 13(2), 193-201 Recuperado de <https://jbas.juw.edu.pk/index.php/JBAS/article/view/550>
- Sharapin, N. (2000). Fundamento de Tecnología de productos Fitoterapéuticos. Santa fe de Bogotá, Colombia: Convenio Andrés Bello.
- Sharma, A., Sharma, T., y Gupta, N. (2021). *In Vitro* Evaluation of Antifungal Activity of Methanolic Root Extract of *Solanum Surattens* Against *Candida Species*. *Journal of Advance Scientific Research*, 12(3). Recuperado de <https://www.sciensage.info/index.php/JASR/article/view/727>
- Shivakumar, S., y Vidyasagar, G. (2015). Antimycotic activity of low polar petroleum ether and interpolare methanolic young leaf extracts of *Solanum nigrum* L. *Int Lett Nat Sci*, 4 (1), 47-56. Doi: 10.18052/www.scipress.com/ILNS.31.47.
- Sierra, J., Siqueiros, M., Flores, E., Moreno, O., y Arredondo J. (2015). Riqueza y distribución de la familia Solanaceae en el estado de Aguascalientes, México. *Rev Botanical Sciences*, 93(1). Recuperado de

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-42982015000100009

Silva, B., Díaz, M., y Febres, N. (2002). Vigilancia de las resistencias de la levadura a antifúngico. *Rev. Infectología*, 19 (2): 149-156.

Tenorio, F., Mondragón, L., Pastelín, G. (2006). Los flavonoides y el sistema cardiovascular: ¿Pueden ser una alternativa terapéutica? *Archivos de Cardiología de México*, 76(4).
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-99402006000800004

Tipanluisa, S. (2011). Evaluación de dos métodos de control contra *Fusarium oxysporum* en el cultivo de naranjilla (Tesis de pregrado). Universidad de Latacunga, Ecuador.

Torres, M., López, L., De La Cruz, G., Silva, S. (2013). Solanaceae mexicanas: Una fuente de nuevos agentes farmacológicos. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*. 5(10), 19-25.

Tortora, G., Berdell, R., Funke, B., Case, C., (2007). *Introducción a la microbiología. 9na Edición*. Editorial Médica Panamericana.

Wen, L., Haddad, M., Fernández, I., Espinosa, G., Ruiz, C., Neyra, E., Bustamante, B., y Rojas, R. Actividad antifúngica de cuatro plantas usadas en la medicina tradicional peruana. Aislamiento de 3' formil – 2',4',6' – trihidroxidihidrochalcona, principio activo de *Psidium acutangulum*. *Rev Soc Quím Perú*, 77 (3), 2.

Yu y cols. (2019). Antifungal Activity of Crude Glycolated Extracts of *Solanum tuberosum* L. (White Potato) Peelings against *Candida* and *Aspergillus* Species. *Acta Medica Philippina*, 53(1). Recuperado de

<https://actamedicaphilippina.upm.edu.ph/index.php/acta/article/view/220>

Zamilpa, A., Tortoriello, J., Navarro, V., Delgado, G., Alvarez, L. (2002). Five new steroidal saponins from *Solanum chrysotrichum* leaves and their antimycotic activity. *J Nat Prod*, 65(12), 1815-9. Doi: 10.2021/np020261h.

Zuñe, L. (2016). Diversidad de la familia Solanaceae en dos áreas naturales protegidas del Peru. *Rev. Ciencia, Tecnología y Humanidades*, 7(1): 11-24 <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/9236/articulo1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

www.bdigital.ula.ve