Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), enero-febrero 2025,
Volumen 9, Número 1.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i1

POTENCIAL ANTIMICÓTICO Y COMPOSICIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE LA PLANTA XKIJIT (RENEALMIA alpinia)

ANTIMICOTIC POTENTIAL AND COMPOSITION OFESSENTIAL OILS FROM THE XKIJIT PLANT (RENEALMIA ALPINIA)

Nicodemo Reyes Hernández García
Universidad Interserrana del Estado de Puebla Ahuacatlán, México

María Remedios Mendoza López
Universidad Veracruzana, México

Francisco Javier Camacho Martínez
Universidad Interserrana del Estado de Puebla Ahuacatlán, México

Sergio Pérez Landero
Universidad Interserrana del Estado de Puebla Ahuacatlán, México

Maylin Almonte Becerril
Universidad de la Salud, México

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i1.16030

Potencial Antimicótico y Composición de Aceites Esenciales de la Planta Xkijit (Renealmia alpinia)

Nicodemo Reyes Hernández García
nicodemorhg@gmail.com
https://orcid.org/0009-0000-8300-5090
Universidad Interserrana del Estado de Puebla
Ahuacatlán (UIEPA)
México

María Remedios Mendoza López
remendoza@uv.mx
https://orcid.org/0000-0002-6441-4558
Instituto de Química Aplicada
Universidad Veracruzana
México

Francisco Javier Camacho Martínez
francisco.camacho@uiepa.edu.mx
https://orcid.org/0009-0002-5481-3413
Universidad Interserrana del Estado de Puebla
Ahuacatlán (UIEPA)
México

Sergio Pérez Landero
sergio.perez@uiepa.edu.mx
https://orcid.org/0009-0000-5115-5481
Universidad Interserrana del Estado de Puebla
Ahuacatlán (UIEPA)
México

Maylin Almonte Becerril[1]
Maylin.almonteb@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-1552-5961
Dirección Ejecutiva de Investigación y de Estudios Avanzados
Universidad de la Salud
México

RESUMEN

Este proyecto tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicótica de aceites esenciales (AE) de *Xkijit* (*Renealmia alpinia*) sobre cultivos de *Candida albicans*; así como caracterizar el perfil fitoquímico de sus componentes. Para ello se llevó a cabo un estudio *in vitro* donde se realizó un extracto de AE extraídos de hoja, raíz, tallo y fruto de la planta *Xkijit* a través del arrastre de vapor, para posteriormente evaluar su actividad antimicótica a diferentes concentraciones sobre placas de crecimiento que contenían *C. albicans*, durante 24 y 48 horas, a través del método de difusión por disco; así como el perfil fitoquímico de los aceites esenciales por cromatografía de gases acoplada a espectroscopia de masas. Los resultados mostraron que los AE provenientes de hoja, tallo y raíz inhibieron el crecimiento de *C. albicans*, siendo el AE de raíz el más efectivo, aún en concentraciones bajas. Asimismo, se identificaron 27 componentes bioactivos, donde se identificaron por primera vez monoterpenos y sesquiterpenos que han mostrado potencial antiinflamatorio, antipirético e incluso con actividad repelente contra mosquitos. En conclusión, los AE de *Xkijit* son una prometedora alternativa terapéutica natural en el diseño de fitofármacos para su uso en tratamiento de diversos padecimientos, incluyendo micosis.

Palabras clave: renealmia alpinia, candida albicans, aceites esenciales, antibiograma, antimicótico

[1] Autor principal
Correspondencia: Maylin.almonteb@gmail.com

Antimicotic Potential and Composition Ofessential Oils from the *Xkijit* Plant (Renealmia Alpinia)

ABSTRACT

The main of this project was to evaluate the antigungal activity of essential oils (EO) from *Xkijit (Renealmia alpinia)* on *Candida albicans* cultures, as well as to characterize the phytochemical profile of its components. For this, an *in vitro* study was carried out where an extract of EO from the leaf, root, stem and fruit of the Xkijit plant (*Renealmia alpinia*) was made through steam drag, to subsequently evaluate its antifungal activity at different concentrations on growth plates containing *C. albicans*, during 24 and 48 hours, through the disk diffusion method; as well as the phytochemical profile of the essential oils was evaluated by gas chromatography coupled to mass spectroscopy. The results showed that the EO from the leaf, stem and root inhibited the growth of *C. albicans*, showing increasing efficiency according to the concentration used, been the root EO being the most effective, even at low concentrations. Likewise, 27 bioactive components were identified, where monoterpenes and sesquiterpenes were identified for the first time in *Renealmia* that have shown anti-inflammatory, antipyretic, and even repellent activity against mosquitoes. In conclusion, it can be mentioned that *Xkijit* EO are a promising natural therapeutic alternative in the design of phytopharmaceuticals for use in the treatment of various conditions, including micosis.

***Keywords*:** renealmia alpinia, candida albicans, essential oils, antibiogram, antifungal activity

Artículo recibido 05 diciembre 2024
Aceptado para publicación: 25 enero 2025

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la medicina contemporánea ha clasificado a los medicamentos según el método de obtención en: naturales (elaborados naturalmente por un organismo vivo), semisintéticos (elaborados naturalmente por un organismo vivo y mejorado en laboratorio) y sintéticos (fabricados netamente en laboratorio) (Vanegas, 2017); donde su uso ha supuesto una revolución en la medicina, dado que ha contribuido de forma muy significativa al progreso en campos como los trasplantes de órganos sólidos y de progenitores hematopoyéticos, la supervivencia de individuos prematuros e inmunodeprimidos (naturales o por terapias farmacológicas), así como en el manejo de catéteres vasculares, donde las infecciones son especialmente prevalentes e importantes, incrementado la esperanza de vida de la población (González Mendoza, Maguiña Varga y González Ponce, 2019). Sin embargo, de manera natural, los microorganismos también desarrollan mecanismos para resistir a los fármacos que se usan y eventualmente pueden transferir estas estrategias a otras generaciones (Moreno, González y Beltrán, 2009; Gobierno de México, 2018). Este proceso es acelerado por la presión selectiva ejercida por uso y abuso de los agentes antimicrobianos en los seres humanos y animales, lo que genera que los medicamentos se vuelvan ineficaces y las infecciones persistentes en las personas (Perozo Mena, 2014; OPS, 2015: Moreno, González y Beltrán, 2009).

Esta creciente resistencia a antimicrobianos, se ha asociado con el uso irracional de antibióticos, el uso cotidiano de conservadores en los alimentos industrializados, así como la producción de desechos hospitalarios (malas prácticas de laboratorio) y agroindustriales, lo que genera no solo su acumulación en medio ambiente; sino que además, promueve la diseminación de infecciones secundarias (Moreno-Ortiz, *et al*, 2013; Rubin y Strayer, 2016), generando una de las amenazas más graves para la salud pública mundial (Perozo Mena, 2014; Xavier, *et al.,*2022), puesto que, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), si no se toman acciones en todos los países, para el año 2050 las muertes relacionadas con la resistencia antimicrobiana podrían superar las defunciones por cáncer (OMS, 2021).

Aunado a lo anterior, las infecciones fúngicas también han incrementado en frecuencia e importancia en las últimas décadas, acompañadas de una alta mortalidad, generalmente ocasionadas por infecciones del torrente sanguíneo; las cuales son mayormente causadas por especies del género *Candida,* cuya incidencia anual, dependiendo del tipo de infección e investigación realizada ha aumentado de 3 a 20

veces a partir de la década del 70 (Zurita Malacalupu, 2018). En este sentido, resulta imperante no solo la búsqueda de nuevos compuestos que reduzcan la incidencia de infecciones y potencien la acción farmacológica de los antibióticos; sino que presenten una baja toxicidad y un buen potencial terapéutico que sirvan como alternativas alentadoras para el control de enfermedades.

De este modo, *C. albicans* es uno de los hongos patógenos humanos más estudiados y usado como organismo modelo para el estudio de otros hongos más peligrosos. Se sabe que es un hongo saprofito oportunista, regulador de pH en biopelículas (Cruz Quintana, *et al.,* 2017), cuyo hábitat es la cavidad bucal humana, genital (principalmente en las mujeres), así como en el tracto gastrointestinal humano (Cruz Quintana, *et al.,* 2017; Jerônimo, *et al.,* 2022). Asimismo, aunque se han descrito más de 150 especies de *Candida*, más del 90% de las infecciones son causadas por *C. albicans*; siendo la candidiasis invasiva en pacientes inmunocomprometidos una gran amenaza para la salud de la población, debido a su alta mortalidad que va del 30% al 60% (Lazo, Hernández y Méndez, 2018). Dentro de sus mecanismos de virulencia, se incluyen la producción de proteasas que catalizan la hidrólisis de las cadenas peptídicas de la membrana celular del hospedador (Semlali, *et al.*, 2014); fosfolipasas, que hidrolizan los enlaces éster presentes en los fosfolípidos, trayendo como consecuencia la disfunción de la membrana y la consecuente invasión del hongo a través de los tejidos (Ombrella, Racca y Ramos, 2008) y; las lipasas, enzimas hidrolíticas con actividad esterásica, que rompen polímeros para proveer nutrientes, e inactivar las defensas del hospedador. Aunado a lo anterior, aunque la selección y duración del tratamiento dependen no solo del principio activo seleccionado, sino de la forma galénica que tiene el producto seleccionado; se ha observado que el uso excesivo de azoles como tratamiento, el consumo de antibióticos de amplio espectro, así como el uso de anticonceptivos orales y el presentar enfermedades crónicas como la diabetes, han mostrado una mayor susceptibilidad de desarrollar candidiasis de forma frecuente (Rubin y Strayer, 2016). Es por ello que, el comprender la biología de este patógeno es indispensable para identificar nuevas opciones farmacológicas para la terapia antifúngica.

En este sentido, aunque la medicina moderna está bien desarrollada en la mayor parte del mundo, grandes sectores de la población de los países en desarrollo todavía dependen de los profesionales tradicionales, las plantas medicinales y los medicamentos herbarios para su atención primaria.

En México, la medicina tradicional representa una conexión culturalmente aceptada, donde las culturas prehispánicas desarrollaron una manera original y potente la forma de clasificar el conocimiento, sobreviviendo a la tendencia política de dar a la medicina científica moderna una prioridad absoluta y reducir al mínimo el conocimiento tradicional (OMS, 2021). Asimismo, el uso de los medicamentos herbarios fue incluidos en la Conferencia Internacional sobre Autoridades Reguladoras de medicamentos (ICDRA) desde la cuarta Conferencia en 1986, e impulsaron a la OMS a elaborar monografías farmacopeicas de los medicamentos herbarios sobre la base de las Normas para la Evaluación de los Medicamentos, lo que abre una puerta para el estudio de diversas plantas y su función terapéutica (OMS, 2021).

Basado en lo anterior, *Xkijit* (*Renealmia alpinia*) es una planta muy apreciada y usada comúnmente como alimento en la población Totonaca, de la sierra norte y nororiental del estado de Puebla, y parte de Veracruz, en México (Marcía, 2003). Pertenece a la familia de las Zingiberaceae, y es una hierba rizomatosa aromática que puede alcanzar de 2 a 6 m de altura, mostrando hojas elípticas de 30 hasta 110 cm, con pecíolos normalmente ausentes (Marcia, 2003). El uso principal de esta planta se enfoca en la industria alimentaria, donde se usa como aceite con fines nutrimentales como fuente de fibra y proteína (Ezpinosa Enríquez, 2018). Pocos estudios se han enfocados a evaluar la actividad antimicótica de *R. alpinia* (E Silva, De Paula, Espindola, 2009); sin embargo, dado el contenido de carotenoides, monoterpenos, diterpenos y sequiterpenos reportados, también se le han atribuido propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Jiménez González, Luna Guevara, y Luna Guevara, 2019). Además, un estudio reciente demostró la actividad antimicótica de rizomas de *Renealmia thyrsoidea* (Noriega-Rivera, *et al.,* 2017); lo que abre la espectativa a evaluar si el AEs de *R. alpinia* proveniente de diferentes partes de la planta, es capaz de inhibir el crecimiento de cepas de *C. albicans* de manera diferencial y si el contenido de metabolitos cambia. En este sentido, el objetivo de este proyecto fue el estandarizar un método de extracción de aceites esenciales provenientes de secciones de raíz, hoja, tallo y fruto de la planta *R. alpinia*, con la finalidad de evaluar su actividad antimicótica sobre cepas de *C. albicans* ATCC 10231; así como determinar el perfil fitoquímico de los componentes que muestren mejor potencial antimicrobiano.

METODOLOGÍA

Obtención del material vegetal

Para la obtención del material biológico se consultó la NOM-059-SEMANART-2010, así como la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) (2023) donde se describen las especies vegetales que están en peligro de extinción, esto con el fin de verificar que la planta *Xkijit* no formara parte de estas especies. El material biológico fue colectado en dos ocasiones, la primera en noviembre del 2021 (temporada de fruto) y la segunda en 2022, en el municipio de Atlequizayán, Puebla, con 20°0′32.746′′N y 97°37′0.062′′W, donde se incluyeron 30 plantas completas.

Procesamiento de las muestras y obtención de AEs

Para la extracción de aceites esenciales (AEs), las plantas de *R. alpinia*, fueron previamente lavadas y secadas para su uso. Una vez listas las muestras, se procedió al procesamiento, en el cual se incluyó 1 kg de material vegetal fresco de hoja, raíz y fruto, respectivamente, los cuales fueron cortados en trozos pequeños de 1 cm con un tamaño de partícula similar para cada uno de los órganos a estudiar; mientras que, para la obtención de tallo, se usaron 10 kg de material vegetal. La identificación taxonómica del material vegetal se realizó en la Universidad Interserrana del Estado de Puebla- Ahuacatlán (UIEPA), México, donde, además, se realizó el depósito de especímenes a la colección de la Universidad. Una vez obtenidas las muestras, fueron sometidas de manera independiente a destilación por arrastre de vapor de agua, para la cual se utilizaron 2.5 L de agua destilada como solvente acarreador por 2 h a 95 °C. De manera paralela, para la obtención del aceite del fruto, se extrajo la pulpa de manera manual y se sometió a secado en una estufa de cultivo (Ecoshel) a 50 °C durante 24 h. Posterior a eso, en un matraz Erlenmeyer se depositaron 50 g de la pulpa seca con 250 mL de agua destilada y se calentó a 90 °C durante 30 min. Una vez pasado el tiempo, los aceites se obtuvieron por decantación, extrayendo el contenido aceitoso con ayuda de una jeringa graduada y fueron depositados en frascos ámbar, donde se pesaron una balanza analítica (OHAUS, modelo AX223) y se almacenaron a -9 °C, hasta su uso. Una vez obtenidos los AEs, se realizó la evaluación de rendimiento por método de extracción y se reportó en relación con peso-volumen.

Evaluación de actividad antimicótica

Para evaluar la actividad antimicótica de los AEs, se usó una modificación del método de difusión de Kirby-Bauer (Hudzicki, 2009). Para ello, inicialmente, se realizó una estandarización del cultivo de la cepa, hasta adecuar sus condiciones de crecimiento. Las características típicas de que se observaron incluían la presencia de colonias puntiformes, con elevación convexa, margen entero, de color crema, redondeadas con bordes definidos, lisos y brillantes con diámetro de 0.5-2.0 mm (Camacho L. et al., 2012); mientras que las levaduras mostraron un tamaño de 2-4 µm correspondiente a *C. albicans.* Una vez adecuadas las condiciones, se procedió a realizar el cultivo de la cepa *C. albicans* ATCC 10231, inoculada por estría en placas p100 de agar Sabouraud maltosa (ASM) (6,5 g/100 mL), previamente reconstituido, esterilizado y enfriado. Posteriormente, se colocaron de forma equidistante tres discos de papel filtro de 7 mm de diámetro, a los cuales se les agregó 15 µl de cada uno de los extractos según correspondía al tratamiento, con sus respectivos controles, y las placas se incubaron invertidas a 30° C durante 48 h.

Para el estudio se tomaron en cuenta cuatro tratamientos en función del agente quimiotáxico presente: T_1= AE de hoja (H), T2= tallo (T), T3= raíz (R) y T= fruto (F), los cuales fueron colocados a diferentes concentraciones (40, 60 y 80%) usando como diluyente etanol al 96%; dos controles positivos: fluconazol (CF) (presentación de 100 mg) y miconazol (CM) (presentación de 20 mg), inoculados impregnando el papel filtro; y un control negativo que contenía el eluyente (CN), tomando además como puntos de referencia al cultivo blanco (medio de cultivo sin cepas) y cultivo puro (cultivo de la levadura). Una vez finalizado el tiempo de cultivo, se procedió a la observación y medición de los halos de inhibición con ayuda de una regla milimétrica. Para evaluar el área de inhibición generado por el uso del AEs de las diferentes partes de la planta, se calculó el promedio del diámetro que correspondía al halo de inhibición generado alrededor de los discos con AE. Para ello, se tomó en cuenta la distancia que iba de la parte superior a la parte inferior del halo de inhibición, pasando por la mitad del disco, lo que se le llamó longitud de inhibición vertical (LIV). Posteriormente, se realizó el mismo procedimiento, pero de manera horizontal, pasando por el centro del disco y se obtuvo la longitud de inhibición horizontal (LIH); a ambas distancias se les restó el diámetro del papel filtro (0.7mm).

De manera paralela, se realizó el mismo procedimiento usando la distancia del inicio del papel filtro al límite del área de inhibición, a fin de homologar resultados. Una vez obtenido el promedio del diámetro, obtuvo el radio y se procedió a usar la fórmula del área del círculo a fin de calcular el área real de inhibición. Todos los estudios fueron realizados por triplicado. Para llevar a cabo el análisis estadístico. Los resultados fueron reportados en una tabla de medias y desviación estándar; así como también por análisis de varianza y regresión lineal, donde se usó el paquete estadístico de Excel y GrapPad 9.

Identificación de metabolitos mediante GC-MS

De manera complementaria, para la identificación del perfil de metabolitos, los extractos aceitosos de *R. alpinia* se mantuvieron a -2 °C para su traslado a la Unidad De Resolución Analítica de la Universidad Veracruzana, ubicado en Xalapa, Veracruz, México para determinar el perfil fitoquímico por medio del equipo de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. Para ello, los extractos frescos de AEs proveniente de la hoja, raíz y tallo, fueron analizados a través de un cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies (*Net Work GC system)*, equipado con una columna DB-5 5%-fenil-metilpolisiloxano (*Agilent Technologies*) de 60 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor de película. La temperatura de inicio fue de 50 °C, la cual se mantuvo durante 5 min, y posteriormente, se elevó hasta 250 °C usando una rampa de calentamiento de 20 °C/min, durante 3 min. Una vez pasado el tiempo, la temperatura incrementó a 280 °C a una velocidad de 20 °C/min y se mantuvo así durante 5 min. Se uso Helio como gas acarreador a un flujo de 1 ml/min, manteniendo la temperatura del inyector a 250 °C. Una vez obtenido el cromatograma, la identificación de cada uno de los picos se llevó a cabo mediante espectrometría de masas (*Agilent Technologies*, 5975 *inert* XL), donde los espectros se obtuvieron a través de la ionización por impacto electrónico a 70eV. Una vez obtenidos, los metabolitos, los picos fueron comparados con en la base de datos NIST (*HP Chemstation-NIST 05 mass spectral search program*, versión 2.0d) utilizando un algoritmo de comparación integrado en el programa, a fin de tener un espectro tentativo de moléculas reportadas, seleccionado únicamente los que alcanzaban una confiabilidad mayor a 90%. Para el análisis de resultados, en función de la similitud del espectro identificado se reportó el porcentaje obtenido presente en los AEs de cada muestra, donde los metabolitos identificados se clasificaron en subcategorías, de acuerdo con las características que presentaron.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el rendimiento de los AEs de las diferentes partes de *R. alpinia* correspondiente a 1 kg de muestra, se observó que la hoja presentó mejor rendimiento, obteniendo 0.9 ml, seguido de la raíz, de la que se obtuvieron 0.5 ml por cada kg de muestras frescas; mientras que, para el caso del tallo y el fruto, el rendimiento fue bajo, alcanzando únicamente 0.05 ml por cada kg de muestra. Una vez realizado el cultivo de *C. albicans* en presencia de los AEs, se procedió a realizar el análisis de los resultados, donde el AE de las tres secciones elegidas, mostraron la formación de un halo de inhibición desde su uso al 40%, presentando una diferencia evidente en comparación con los controles, donde el CN no mostró inhibición de crecimiento en las cepas, y el CF fue tomado como referencia para comparar el uso de AEs, al alcanzar el mayor halo de inhibición (Fig. 1A y B).

Los resultados mostraron, que los AEs generaron la inhibición del crecimiento de *C. albicans*, desde su uso al 40% (Fig. 1 A), siendo la raíz la que mejor área de inhibición alcanzó, superando de manera significativa ($p \leq 0.01$) hasta por tres veces el área de inhibición generada por el CF, aún en bajas concentraciones (Fig. 2 C y D). Para el caso de la hoja, se observó una tendencia creciente a inhibir el crecimiento de *C. albicans,* mostrando diferencias significativas con el CF solo al 80% (Fig. 2A y D); mientras que, el tallo (Fig. 2 B y D) solo se observó inhibición a partir de su uso al 60%, pero su nivel máximo lo alcanzo al 80%, sin mostrar diferencias significativas en comparación con el área de inhibición alcanzada por el CF. El fruto no mostró capacidad inhibitoria (dato no mostrado). Asimismo, al realizar la regresión lineal de los AEs a diferentes concentraciones, los resultados mostraron un coeficiente de correlación (r^2) de 0.85 correspondiente al AE de raíz; mientras que el AEs de hoja (r^2=0.65) y tallo (r^2=0.62) alcanzaron un coeficiente de correlación menor a 0.7.

Estos resultados coinciden con trabajos previos que han indicado que la familia de las Zingiberaceae ha sido tradicionalmente usada en el tratamiento de diversas enfermedades, por el alto contenido de metabolitos activos, que han mostrado potencial para neutralizar parcial o totalmente los efectos causados por mordidas de serpiente, así como efectos antiinflamatorios y analgésicos (Gómez-Betancur y Benjumea, 2014); mientras que, para el caso de *R. alpinia*, se han descrito diversas propiedades biológicas de sus AE, dentro de las que destacan su potencial actividad analgésica y antiinflamatoria, relacionada con el contenido de terpenos (Gómez- Betancur, Benjumea, Gómez, Mejía y León, 2019;

Camilo Patiño, López, Aristizábal, Quintana y Benjumea, 2012); actividad antinociceptiva, así como actividad antifódica asociada con el alto contenido de flavonoides, lo que le brinda un gran potencial para su uso contra mordidas de serpiente (Gevú, De Carvalho, Da Silva, Lima, Castro y Da Cunha, 2019; Fernández, Ortiz, Pereáñez y Martínez, 2010). Asimismo, un estudio realizado con extractos de *R. nicolaioides* demostraron su capacidad para inducir la inhibición de *C. tropicalis* a la concentración de 1000ug/ml (Noriega-Rivera, Paredes, Díaz Gómez, Lueckhoff, Almeida y Suarez, 2017; Gevú, Carvalho, Da silva, Lima, Castro y Da Cumha, 2019; Maia, Andrade, Carreira y Da Silva, 2007); mientras que, nuestros resultados permitieron identificar por primera vez la actividad antimicótica de AE de raíz, la cual se la cual se mantuvo constante aun en extractos obtenidos de dos temporadas diferentes de cosecha, lo que permite afirmar que su contenido de metabolitos con actividad antimicótica es altamente conservada tanto en raíz como en hoja.

Aunado a lo anterior, es bien sabido que, los componentes naturales de las plantas siguen siendo fuentes importantes para el descubrimiento de fármacos, donde los terpenos, obtenidos de aceites esenciales de plantas aromáticas, así como los alcoholes, esteres, aldehídos, cetonas, lactonas, fenoles, etc., muestran características estructurales con propiedades polifarmacológicas (Zapata, Durán, Stashenko, Betancur-Galvis y Mesa-Arango, 2010; Bueno-Sánchez, Martínez-Morales y Stashenko, 2009; Puškárová, Bučková, Kraková, Pangallo, y Kozics, 2017), y donde aceites esenciales provenientes de especies como *Origanum vulgare, Thymus vulgaris* L., *Salvia sclarea* L. y *Lavandula angustifolia* Mill., han mostrado un retraso de la cinética del crecimiento y la reducción en el número de células, proponiendo al cinamaldehído como un candidato como conservante natural, por su efecto fungistático y fungicida sobre el género de *Aspergillus, Penicillium* e incluso en *Candida*. No obstante, la mayoría de los estudios reportados se han orientado en su uso para la industria agroalimentaria, donde se buscan estrategias naturales para la reducción de crecimiento de hongos y bacterias en los alimentos (Nißl, Westhaeuser, y Noll, 2021; Puškárová, Bučková, Kraková, Pangallo, y Kozics, 2017; Bakhtiari, Jafari, Bigon Taheri, Jafarzadeh Kashi, Iman y Poorberafeyi, 2019).

De manera paralela, una vez evaluada la actividad antimicótica y con el objetivo de conocer el contenido de los AE de cada sección de la planta, se procedió a realizar el análisis por espectrometría de masas, donde se seleccionaron únicamente las zonas de la planta que mostraron mejor actividad antimicótica,

incluyendo a la hoja y a la raíz. En todos los casos se omitió el uso del fruto dado que no dio actividad antimicótica. Al realizar el análisis, se identificaron 26 metabolitos, 4 de los cuales se mantuvieron constantes en el porcentaje reportado en las tres zonas de la planta, hoja, tallo y raíz (Fig. 3).

Dentro de los metabolitos con mayor concentración en las tres regiones de la planta se incluyeron β-pineno con más del 50%, y mostrando la mayor concentración en raíz; α-pineno, con más de 16%, alcanzando la mayor concentración en la hoja con más de 18%; limoneno y β-selineno, que mostraron un porcentaje de más de 3%, alcanzando los mayores niveles en hoja; así como canfeno y α-tujeno, que mostraron un porcentaje relativo al 0.3% que se mantuvo constante en las tres secciones de la planta (Tabla 1).

Estos resultados coinciden con trabajos previos que han indicado que los principales componentes de los aceites esenciales con actividad antifúngica incluyen a los monoterpenos, metabolitos secundarios que contienen 10 carbonos, los cuales confieren a la planta propiedades odoríferas únicas por sus bajos puntos de ebullición. Dentro de los efectos reportados por el uso de monoterpenos se encuentran los efectos inhibitorios del crecimiento micelar por la inhibición de las pectinas metil esterasas y celulasa, afecciones en la morfología, permeabilidad y fluidez de membrana, así como en reducción de la síntesis de ATP mitocondrial; lo que afecta la estabilidad de la célula y la formación del *biofilm*. Dichos efectos son asociados al timol, carvacrol y limoneno; sin embargo, el contenido de hidroxilos y formación de terpenoides puede tener mejor respuesta (Nazzaro, Fratianni, Coppola, y De Feo, 2017; Cano, Bonilla, Roque y Ruiz, 2008; Aparicio-Zambrano, Rojas-Fermín, Velasco, Usubillaga, Sosa y Rojas, 2019). Asimismo, nuestros resultados se relacionan con otros estudios que han estudiado componentes del aceite esencial de especies de *Renealmia*, donde se ha reportado la presencia de α-tujeno, α-pineno, β-pineno, α-terpineno, limoneno, γ-terpineno, tanto en raíz como en hoja (Noriega-Rivera, Paredes, Díaz Gómez, Lueckhoff, Almeida y Suarez, 2017; Gevú, Carvalho, Da silva, Lima, Castro y Da Cumha, 2019; Maia, Andrade, Carreira y Da Silva, 2007). No obstante, nuestros resultados difieren parcialmente de otro estudio que identificó la presencia de β-pineno en el AE de hojas y raíz de *R. alpinia*, así como bajas concentraciones de β-pineno en fruta y solo limoneno en raíz; mientras que este estudio logró evidenciar otros metabolitos, incluyendo algunos presentes en la *Cannabis sativa* como son el α-pineno y β-selineno (Giese, Lewis, Giese y Smith, 2015; Menghini et al., 2021; Micalizzi, Vento, Alibrando,

Donnarumma, Dugo y Mondello, 2021). Lo anterior puede estar asociado al método de extracción de los aceites o la temporada de recolección.

Aunado a lo anterior, reportes previos han indicado que los monoterpenos, metabolitos secundarios que contienen 10 carbonos, no solo confieren a la planta propiedades odoríferas únicas por sus bajos puntos de ebullición; sino que además son capaces de inhibir el crecimiento micelar por la inhibición de las pectinas metil esterasas y celulasa, provocar afecciones en la morfología, permeabilidad y fluidez de membrana, así como reducir la síntesis de ATP mitocondrial, afectando la estabilidad celular y la formación del biofilm de diversas especies de hongos (Nazzaro, Fratianni, Coppola, y De Feo, 2017; Cano, Bonilla, Roque y Ruiz, 2008; Aparicio-Zambrano, Rojas-Fermín, Velasco, Usubillaga, Sosa y Rojas, 2019). En este sentido, al evaluar las propiedades de los metabolitos identificados y su rol en la actividad antifúngica reportada, se encontró que, para el caso de α-pineno, hidrocarburo bicíclico que presenta propiedades volátiles e hidrofóbicas, diversos reportes lo han identificado como principal metabolito en muchos aceites esenciales derivados de coníferas, aunque puede presentar otros isómeros como el β- y δ-pineno (Allenspach y Steur, 2021; Salehi, et al, 2019; Rahimi, Zalaghi, Shehnizard, Salari, Baghdezfoli y Ebrahimifar, 2023; Noriega Rivera, Paredes, Díaz Gómez, Lueckchoff, Almeida, y Suarez, 2017). Dentro de sus actividades biológicas, destacan su actividad antioxidante y antiinflamatoria, dado que es capaz de reducir la expresión de proteínas asociadas con la inflamación; antioxidante, asociados por la reducción de especies reactivas de oxígeno; capacidad neuro y gastro protectora, relacionada con efectos anti nociceptivos; así como su potencial antimicrobiano, antitumoral, antimetastasico e incluso insecticida (Allenspach y Steur, 2021; Salehi, et al, 2019; Rahimi, Zalaghi, Shehnizard, Salari, Baghdezfoli y Ebrahimifar, 2023; Noriega Rivera, Paredes, Díaz Gómez, Lueckchoff, Almeida y Suarez, 2017); mientras que, otros estudios han mostrado que es capaz de reducir el número de blastoconidios e inhibir la transición pseudohifas de *Candida* (Allenspach y Steur, 2021; Salehi, *et al.,* 2019; Rahimi, Zalaghi, Shehnizard, Salari, Baghdezfoli y Ebrahimifar, 2023).

Por otro lado, la presencia de limoneno, monoterpeno considerado el mayor constituyente de los aceites esenciales de cítricos; así como el timol, han mostrado una actividad antifúngica contra *C. tropicalis,* asociado con la inducción de falla en el transporte de iones y generación de ATP en la membrana, promoviendo su permeabilidad (Hao, et al, 2022; Zapata, Durán, Stashenko, Betancur-Galvis y Mesa-

Arango, 2010). Diversos trabajos, donde se ha estudiado el uso de los aceites esenciales con alta concentración de limoneno (más del 80% de su composición) muestran una capacidad inhibitoria del crecimiento de diversos hongos como *Aspergillus niger*, donde se hace un deterioro irreversible de su morfología (*Citrus sinensis*); genera alteraciones en la permeabilidad y fluidez de la membrana en *Candida albicans* (árbol de té); e incluso provoca alteraciones en el ciclo del ácido cítrico, donde los extractos de *Anethum graveolens* afectan la síntesis del ATP mitocondrial en *C. albicans* (Nazzaro, Fratianni, Coppola, & De Feo, 2017). Además, una revisión realizada recientemente, donde se evaluó el contenido de diversos aceites esenciales, indicó que, para el caso de *Candida*, los aceites esenciales que han mostrado mejor efectos antifúngicos son aquellos que contienen alta concentración de limoneno y α-pineno, identificados en extractos de *Juniperus, Alpine, J.,* y *Cicuta virosa, Lippia alba y Ferulago*; eugenol, timol y carvacrol, obtenidos de aceite de clavo, *Thymus pulegioides,* y *Lavanda multidifa* L.; β-pineno y ϒ-terpineno, obtenidos de *Citrus sinesis* y *Citrus latifolia*, entre otros. Dicha actividad ha sido evidenciada por la técnica por difusión de disco y método de macro dilución (Abdi-Moghadam, *et al*, 2023; Pinto, *et al*, 2006; Ruiz-Pérez, *et al*, 2016; Nazzaro, Fratianni, Coppola, y De Feo, 2017); lo que podría evidenciar los metabolitos responsables de la alta actividad antimicótica de los AE de raíz observados en este estudio.

De manera complementaria, con el objetivo de diferenciar los componentes de metabolitos identificados, se realizó una clasificación de acuerdo con sus características químicas, donde 15 fueron subclasificados como monoterpenos, incluyendo a α-tujeno, α-pineno, canfeno y β-pineno, por mencionar algunos; y 12 fueron identificados como sesquiterpenos (Tabla 2).

Estos resultados permitieron la identificación de algunos metabolitos reportados por primera vez en el género de *Renealmia*, donde destacan la presencia de monoterpenos volátiles presentes en aceites esenciales de cítricos como canfeno, trans-3-pinanona y γ-gurjureno, los cuales ya han sido asociados la actividad antifúngica, probados incluso en *Candida* (Flores-Villa, Sáenz-Galindo, Castañeda-Facio, y Narro-Céspedes, 2020; Quintana-Obregón, Sánchez-Mariñez, Cortez-Rocha, y González-Aguilar, 2017; Huanca Miranda, Castro Mandujano, López Rodilla, y Bautista Cruz, 2021; Aparicio-Zambrano, Rojas-Fermin, Velasco, Usubillaga, Sosa y Rojas, 2019; Villarreal-Rivas, *et al*, 2023); y otros menos conocidos como 3- careno, que ha mostrado un efecto antifúngico en alimentos (Puškárová, Bučková,

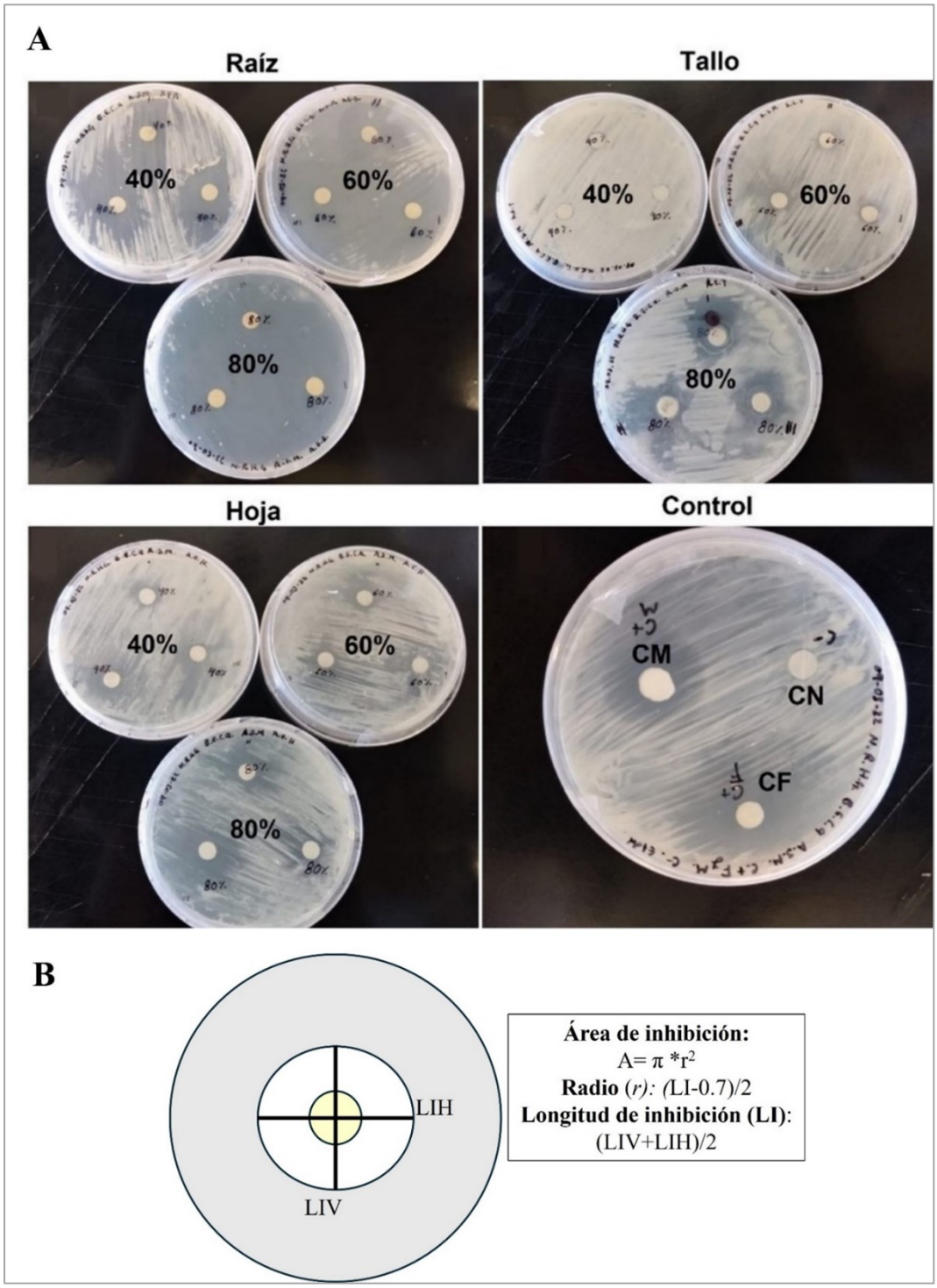
Kraková, Pangallo, y Kozics, 2017), pero su efecto sobre *Candida* no es concluyente (Dambolena, y otros, 2011). Asimismo, se identificó el cis-pinen-3-ol, molécula que, aunque no ha sido muy estudiada, es un terpeno oxigenado, lo cual puede conferir propiedades antifúngicas; y β-terpineno, cuya presencia se ha asociado más con un efecto sedante (Quintana-Obregón, Sánchez-Mariñez, Cortez-Rocha, y González-Aguilar, 2017).

Para el caso de los sesquiterpenos, el β-selineno y el γ-gurjureno, son los más estudiados, reportados en cítricos y junto con otros terpenos como limoneno, α-pineno y β-pineno han mostrado una actividad antifúngica sobre *Candida* (Aparicio-Zambrano, Rojas-Fermín, Velasco, Usubillaga, Sosa, y Rojas, 2019; Villarreal-Rivas, *et al*, 2023). Además, el β -selineno se ha asociado no solo con la actividad antiinflamatoria, antioxidante y antipirética de los aceites esenciales, sino también con un rasgo evolutivo de la especie, para adaptarse y sobrevivir en el medio ambiente que la rodea (Aparicio-Zambrano, Rojas-Fermín, Velasco, Usubillaga, Sosa, y Rojas, 2019; Chandra, *et al,* 2017). En contraste, aunque el γ-selineno y α-panasinseno han sido poco estudiados, sin actividad antifúngica reportada (Nolazco-Cama, Villanueva-Quejia, Hatta Sakoda, y Tellez Monzon, 2020; Sánchez-Fernández, Diaz, Duarte, Lappe-Oliveras, Sánchez y Macías-Rubalcava, 2016); un estudio previo ha indicado que aceites esenciales con β -selineno y γ-selineno pueden ser usados como repelentes contra mosquitos (Tuetun, *et al*, 2008). Finalmente, aunque hay poca información relacionada con el papel de longipinano un estudio indicó que puede tener propiedades anti-alimentarias contra insectos, brindando protección a la planta (Cerda-García-Rojas, *et al*, 2009).

De este modo, los resultados no solo mostraron que el contenido de metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de *Xkijit* comparte características con otros aceites, principalmente con cítricos, los cuales han mostrado un efecto solo antifúngico y antimicrobiano; sino que la baja toxicidad y la facilidad para el manejo y obtención de componentes activos de *Xkijit*, la hacen un candidato ideal para la obtención de diversos metabolitos con otras funciones farmacológicas, donde los nuevos metabolitos identificados en este estudio abren una nueva puerta para explorar las propiedades de *Xkijit*.

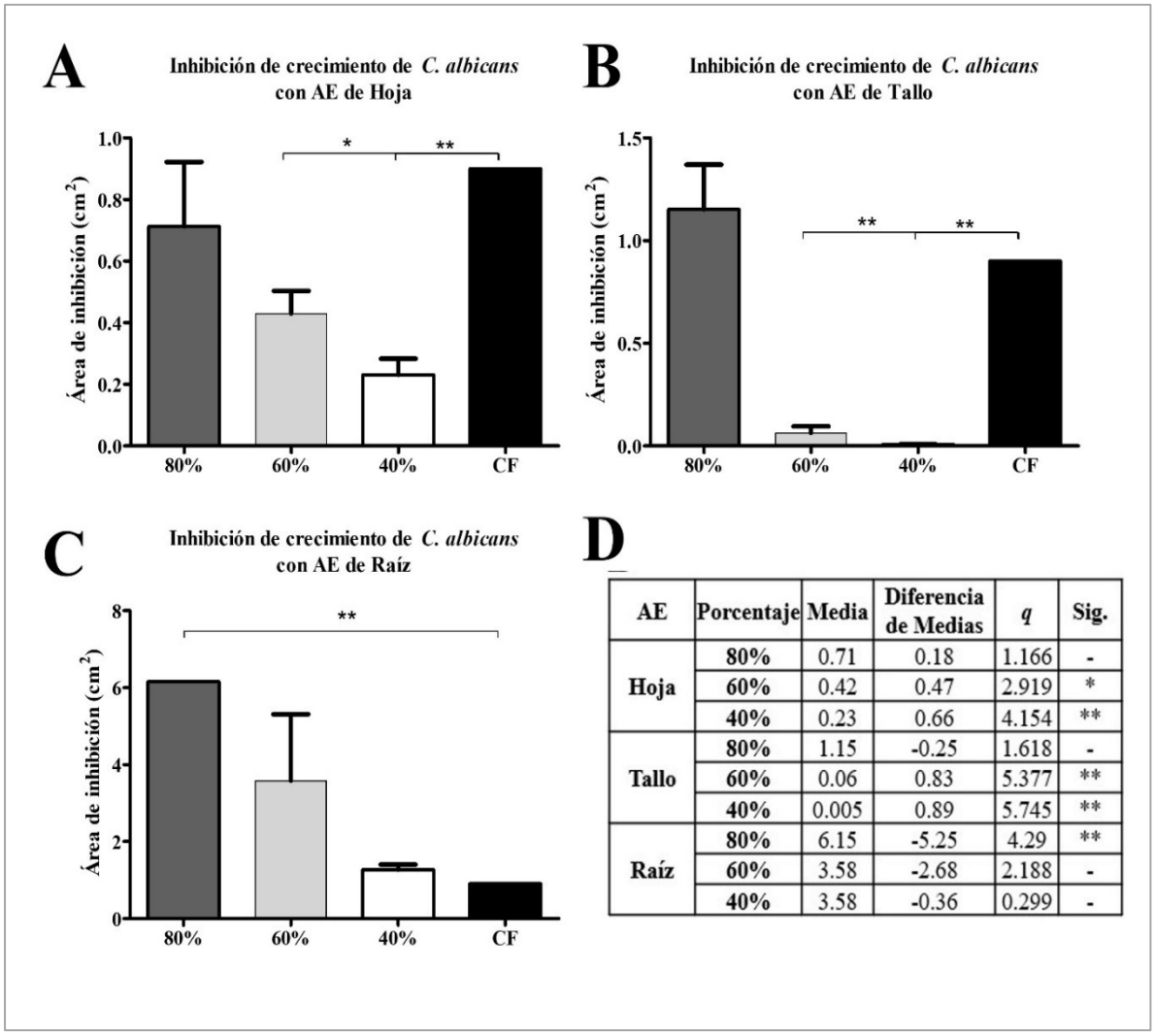
ILUSTRACIONES, TABLAS, FIGURAS.

Figura 1. Inhibición del crecimiento de *C. albicans.*



(A) Representación gráfica del efecto inhibitorio del uso de AE de raíz, tallo y hoja a diferentes porcentajes de uso; así como del uso de miconazol (CM), fluconazol (CF) y etanol al 96% (CN) sobre el crecimiento de *C. albicans.* (B). Representación esquemática de la medición del área de inhibición de crecimiento de *C. albicans.* LIV: longitud de inhibición vertical, LIH: longitud de inhibición horizontal, LI: longitud de inhibición, *r*: radio, A: área de inhibición.

Figura 2. Evaluación de la actividad antimicótica de AE de *R. alpinia* sobre *C. albicans.*

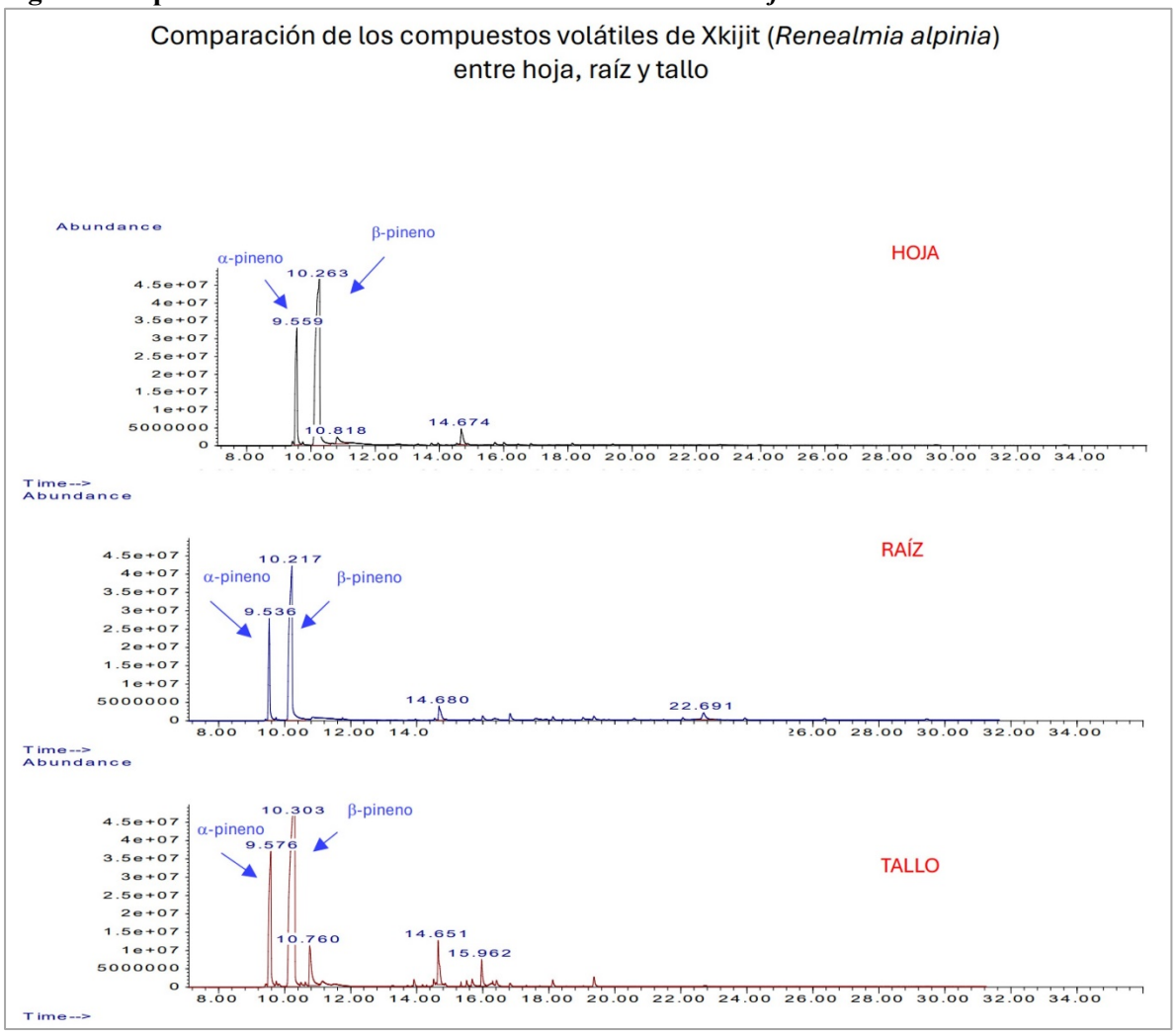


D

AE	Porcentaje	Media	Diferencia de Medias	*q*	Sig.
Hoja	80%	0.71	0.18	1.166	-
	60%	0.42	0.47	2.919	*
	40%	0.23	0.66	4.154	**
Tallo	80%	1.15	-0.25	1.618	-
	60%	0.06	0.83	5.377	**
	40%	0.005	0.89	5.745	**
Raíz	80%	6.15	-5.25	4.29	**
	60%	3.58	-2.68	2.188	-
	40%	3.58	-0.36	0.299	-

(A, B, C) Representación gráfica de la evaluación del área de inhibición generada por el uso de AE de hoja (A), tallo (B) yraíz (C) a diferentes porcentajes sobre cultivos de *C. albicans.* (D) análisis de varianza realizada de las medias de inhibición generadas por el uso de AE de hoja, tallo y raíz y comparadas con el área de inhibición generada por fluconazol. *=p≤0.05, **=p≤0.01, ***=p≤0.001.

Figura 3. Espectrometría de masas de aceites esenciales de *Xkijit.*



Muestra los metabolitos identificados en aceites esenciales provenientes de raíz, tallo y hoja de la planta *Xkijit.*

Tabla 1. Resultados de la CG-MS donde se encontraron 26 metabolitos secundarios de los aceites esenciales de *Renealmia alpinia*, donde 8 metabolitos predominan en toda la planta.

N.	Nombre	T.R. (MIN)	*R.alpinia*		
			hoja	tallo	raíz
			% Área	% Área	% Área
1	α-tujeno	9.43	0.53	0.29	0.31
2	α -pineno	9.55	19.98	16.91	18.46
3	Camfeno	9.74	0.605	0.52	0.615
4	cis-pinen-3-ol	9.82		0.44	0.33
5	β-pineno	10.26	57.92	54.07	59.24
6	3-careno	10.38	8.44		
7	α -phellandreno	10.50		0.57	
8	(+)-4-Careno	10.62	0.43	0.51	0.43
9	β-terpineno	10.67	0.57		0.42

10	Limoneno	10.82	4.33	6.32	2.01
11	γ-terpineno	11.14	1.05	2.09	1.37
12	trans-3-pinanona	12.32	0.19		
13	2-norpineno	12.72	0.68		
14	Acetato de bornilo	13.13		0.08	
15	(+)-4-Canfeno	13.86	0.03	0.13	
16	β -elemeno	13.96	0.3	0.65	0.33
17	Caryofilleno	14.21	0.11	0.18	
18	Alloaromandreno	14.49	0.07	0.08	
19	γ -selineno	14.54	0.29	0.55	0.39
20	γ -muuroleno	14.59	0.13	0.29	
21	**β -selineno**	14.68	3.77	4.92	4.28
22	β-Gurjureno	14.80	0.11	0.24	
23	α -Panasinseno	14.86	0.23	0.36	0.22
24	γ -elemeno	15.73	0.59		0.45
25	Longipinano	16.00	0.60	2.68	1.05
26	γ -Gurjureno	16.25		0.53	0.71
27	α -patchouleno	16.44	0.33		0.44

Tabla 2. Clasificación de los metabolitos identificados por características químicas.

Monoterpenos	**Sesquiterpenos**
α-tujeno	β -elemeno
α -pineno	Caryofilleno
Camfeno	Alloaromadendreno
cis-pinen-3-ol	g-selineno
β-pineno	g-muuroleno
3-careno	β -selineno
α -phellandreno	β-Gurjunene
(+)-4-Careno	α -Panasinseno
β -terpineno	g-elemeno
Limoneno	Longipinano
g-terpineno	g-Gurjureno
trans-3-pinanona	α -patchouleno
2-norpineno	
Acetato de bornilo	
(+)-4-Canfeno	

CONCLUSIÓN

Se extrajo aceite esencial de *Xkijit* (*R. alpinia*) mediante destilación por arrastre de vapor de agua debido a que este no utiliza otros solventes y se obtienen extractos más puros de compuestos volátiles (terpenos) y de carácter aromático. Asimismo, aunque el aceite esencial de la raíz mostró tener una mayor actividad antimicótica en contra de *C. albicans* en comparación con los controles usados para tratar candidiasis sistémica y diseminada; las hojas y el tallo también mostraron una alta efectividad contra el crecimiento de *C. albicans,* lo que posiciona el uso de *R. alpinia* como una prometedora alternativa terapéutica natural en el diseño de productos para la salud humana en el control y tratamiento de diversos padecimientos, incluyendo las micosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abdi-Moghadam, Z., Mazaheri, Y., Rezagholizade-shirvan, A., Mahmoudzadeh, M., Sarafraz, M., Mohtashami, M., et al (2023). The significance of essential oils and their antifungal properties in the food industry: A systematic review. *Heliyon*, 9(11), e21386. Recuperado el 10 de Abril de 2024, de https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844023085948

Allenspach, M. & Steuer, C. (2021). A-pinene: a never-ending story. *Phytochemestry.* 190: 112857. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112857

Cano, C., Bonilla, P., Roque, M., & Ruiz, J. (2008). Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de Minthostachys Mollis (muña). *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 25 (3). http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000300008

Cerda-García-Rojas, C., Burgueño-Tapia, E., Román-Marín, L., Hernández-Hernández, J., Agulló-Ortuño, T., González-Coloma, A., & Joseph-Nathan, P. (2009). Antifeedant and Cytotoxic Activity of Longipinane Derivatives. Planta Medica, 76(03), 297–302. doi:10.1055/s-0029-1186080

Chandra, M., Prakash, O., Kumar, R., Kumar Bachheti, R., Bhushan, B., Kumar, M. & Kumar Pant, A (2017). β-selinene-rich essential oils from the parts of Callicarpa macrophyllia and their antioxidant and pharmacological activities. Medicines (Basel). 4 83): 52. DOI: 10.3390/medicines4030052

Cruz Quintana, S., Díaz Sjostrom, P., Mazón Baldeón, G., Arias Socarrás, D., Calderón Paz, M., & Herrera Molina, A. (2017). Genoma de Candida albicans y resistencia a las drogas. *Revista Salud Uninorte, 33*(3), 438-450. doi: https://doi.org/10.14482/sun.33.3.10914

Dambolena, J., Meriles, J., López, A., Gallucci, M., González, S., Guerra, P., . . . Zunino, M. (2011). Actividad antifúngica del aceite esencial de cinco especies de Juniperus de Argentina. *Boletín Latinoaméricano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 10*(2), 104-115. Recuperado el 15 de Abril de 2024, de https://www.redalyc.org/pdf/856/85617384003.pdf

E Silva, F., De Paula, J. & Espindola, L. (2009). Evaluation of the antifungal potential of Brazilian Cerrado medicinal plants. Mycoses. 52 (6), 511-515. DOI: 10.1111/j.1439-0507.2008.01647.x

Ezpinosa Enríquez, J. L. (2018). Obtención, caracterización y conservación de aceite de tapicon (*Renealmia alpinia*) para uso alimentario. *Tesis de doctorado, CINVESTAV-IPN Unidad Zacatecano, Biotecnologia y bioingenieria*. Obtenido de https://repositorio.cinvestav.mx/bitstream/handle/cinvestav/1345/SSIT0015646.pdf?sequence=1

Flores-Villa, E., Sáenz-Galindo, A., Castañeda-Facio, A., & Narro-Céspedes, R. (2020). Romero (*Rosmarinus officinalis* L.) su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas, 23*, 1-17. doi: https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266

Gevú, K., De Carvalho, M., Da Silva, I., Lima, H., Castro, R., & Da Cunha, M. (2019). Phenolic compounds from the rhizome of *Renealmia nicolaioides* Loes: a new diarylheptanoid. 91 (1): e20180312. http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201920180312

Gobierno de México (2018). México contra la resistencia a los antimicrobianos. Gobierno de México. *https://www.gob.mx/salud/articulos/mexico-contra-la-resistencia-a-los-antimicrobianos*

Gómez-Betancur, I. & Benjumea, D. (2014). Traditional use of the genus *Renealmia* and *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas (Zingiberaceae)- A review in the treatment of snakbites. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 7 (Suppl. 1): S574-S582.

González Mendoza, J., Maguiña Vargas, C., & González Ponce, F. d. (2019). La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Médica Peruana, 36*(2), 145-151. Obtenido de

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172019000200011&lng=es&tlng=es..

Hao, Y., Zi-Xi, L., Wen-Liang, X., Ming, H, Jie, T., Yue, L., Qiu-Huan, Z., Qing, Z., Yu, R. & Lei, L, (2022). Antifungal activity and mechanism of d-limonene against foodborne opportunistic pathogen *Candida tropicalis*, LWT- *Food Science and Technology*, 159, 113144 https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113144

Huanca Miranda, C., Castro Mandujano, N., López Rodilla, J., & Bautista Cruz, N. (2021). Actividad antibacterial y composición química del aceite esencial de la Aloysia aloysioides Loes. *Revista de la Sociedad Química del Perú, 93*(3), 195-206. doi:10.37761/rsqp.v87i3.347

Jerônimo, L., Esteves Lima, R., Suzuki, T., Discacciati, J., & Bhering, C. (2022). Oral Candidiasis and COVID-19 in Users of Removable Dentures: Is Special Oral Care Needed? *Gerontology, 68*(1), 80-85. doi: https://doi.org/10.1159/000515214

Jiménez González, O., Luna Guevara, M., Luna Guevara, J. (2019). *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas: An unappreciated fruit current and potential uses of the fruit. *Nutrition & Food Science.* 9 (1). 1-3. 10.19080/NFSIJ.2019.09.555755

Lazo, V., Hernández, G., & Méndez, R. (2018). Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. *Horizonte Medico (Lima), 18*(1), 75-85. doi: https://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n1.11

Maia, J. G., Andrade, E. H., Carreira, L. M., & Da Silva, M. H. (2007). Essential Oil Composition of *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 10*(1), 10-14. doi: https://doi.org/10.1080/0972060x.2007.10643512

Marcía, M. J. (2003). *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas (Zingiberaceae): planta comestible de la Sierra Norte de Puebla (México). *Anales del Jardín Botánico de Madrid, 60*(1), 183-187. Obtenido de https://digital.csic.es/bitstream/10261/2482/1/Renealmia.pdf

Moreno, C., González, R., & Beltrán, C. (2009). Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Revista de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello* . 69 (2). 185-192. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-48162009000200014

Moreno-Ortiz, V. C., Martínez-Núñez, J. M., Kravzov-Jinich, J., Pérez-Hernández, L. A., Moreno-Bonett, C., & Altagracia-Martínez, M. (2013). Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas, 44*(4), 17-29. Obtenido de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000400003

Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017). Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals, 10*(4), 86. doi:10.3390/ph10040086

Nißl, L., Westhaeuser, F., & Noll, M. (2021). Antimycotic Effects of 11 Essential Oil Components and Their Combinations on 13 Food Spoilage Yeasts and Molds. *Journal of fungi, 7*(10), 872. doi:10.3390/jof7100872

Nolazco-Cama, D., Villanueva-Quejia, E., Hatta Sakoda, B., & Tellez Monzon, L. (2020). Extracción y caracterización química del aceite esencial de Eucalipto obtenido por microondas y ultrasonido. *Revista de Investigaciones Altoandinas, 22*(3), 274-284. Recuperado el 14 de Abril de 2024, de https://www.studocu.com/pe/document/universidad-nacional-agraria-la-molina/quimica-de-alimentos/extraccion-de-aceite/38376009

Noriega Rivera, P., Paredes, E., Díaz Gómez, E., Lueckhoff, A., Almeida, G., & Suarez, S. (2017). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de los rizomas de *Renealmia thyrsoidea* (Ruiz & Pav) Poepp. & Eddl (shiwanku muyu). *Revista Cubana de Plantas Medicinales, 22*(2). Recuperado de https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/505/276

Ombrella, A., Racca, L., & Ramos, L. (2008). Actividades proteinasa y fosfolipasa de aislamientos de Candida albicans provenientes de secreciones vaginales con distintos valores de pH. *Revista Iberoamericana de Micología, 25*(1), 12-16. doi:10.1016/s1130-1406(08)70004-4.

OMS, Organización Mundial de la Salud (2021). Situación Reglamentaria de los Medicamentos, Reseña Mundial. *Organización Mundial de la Salud. 52p.* OMS, Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos. *Organización Mundial de la Salud.* https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance

OPS, Organización Panamericana de Salud (2015). Resistencia a los antimicrobianos. *Organización Panamericana de Salud.*

Perozo Mena, A. (2014). Resistencia a los Antibiíticos ¿Amenaza Global, estamos llegando a la era Pst-antibiótico?. Kasmera. 42(1) 5-7. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222014000100001

Pušk árová, A., Bučková, M., Kraková, L., Pangallo, D., & Kozics, K. (2017). The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/genotoxicity to human HEL 12469 cells. *7* (8211), 1-11. doi: DOI:10.1038/s41598-017-08673-9

Quintana-Obregón, E., Sánchez-Mariñez, R., Cortez-Rocha, M., & González-Aguilar, G. (2017). Actividad antifúngica in vitro de mezcla de terpenos de naranja contra Alternaria tenuissima. *Revista mexicana de micología, 45*, 7-12. Recuperado el 15 de Abril de 2024, de https://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v45/0187-3180-rmm-45-00007.pdf

Rahimi K, Zalaghi M, Shehnizad EG, Salari G, Baghdezfoli F, & Ebrahimifar A. (2023) The effects of alpha-pinene on inflammatory responses and oxidative stress in the formalin test. *Brain Res Bul*. Oct 15;203:110774. doi: 10.1016/j.brainresbull.2023.110774.

Rubin, E., & Strayer, D. S. (2016). *Patología: Fundamentos Clinicopatológicos en Medicina* (7 ed.). Barcelona: Wolters Kluwer.

Ruiz-Pérez, N., González-Ávila, M., Sánchez-Navarrete, J., Toscano-Garibay, J., Moreno-Eutimio, M., Sandoval-Hernández, T., & Arriaga-Alba, M. (2016). Antimycotic Activity and Genotoxic Evaluation of Citrus sinensis and Citrus latifolia Essential Oils. *Scientific Reports, 6*(25371), 1-6. doi:0.1038/srep25371

Salehi, B., Upadhyay, S., Erdogan Orhan, I., Kumar Jugran, A., Jayaweera, S., Dias, D., Sharopov, F., Taheri, Y., Martins, N., Baghalpour, N., Cho, W. & Sharifi-Rad, J. (2019) Therapeutic Potential of α- and β-Pinene: A Miracle Gift of Nature. *Biomolecules*. 9(11):738. doi: 10.3390/biom9110738. PMID: 31739596

Sánchez-Fernández, R., Diaz, D., Duarte, G., Lappe-Oliveras, P., Sánchez, S., & Macías-Rubalcava, M. (2016). Antifungal volatile organic compounds from the endophyte Nodulisporium sp. Strain

GS4d2II1a: a qualitative change in the intraspecific and intrerspecific interactions with pythium aphanidermatum. *Microbial Ecology, 71*(2), 347-364. doi:

Semlali, A., Killer, K., Alanazi, H., Chmielewski, W., & Rouabhia, M. (2014). Cigarette smoke condensate increases C. albicans adhesion, growth, biofilm formation, and EAP1, HWP1 and SAP2 gene expression. *BMC Microbiol*, 14:61. doi: https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-61

Tuetun, B., Choochote, W., Pongpaibul, Y., Junkum, A., Kanjanapothi, D., Chaithong, U., … Pitasawat, B. (2008). Celery-based topical repellents as a potential natural alternative for personal protection against mosquitoes. P*arasitology Research*, 104(1), 107–115. doi:10.1007/s00436-008-1167-1

Vanegas, A. M. (2017). Una visión histórica en el desarrollo de fármacos a partir de productos naturales. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 48*(3), 16-27. Obtenido de https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57956616003

Villarreal-Rivas, S., Rojas-Fermin, L., Lárez, R., Torres, M., Díaz, C., Lucena de Ustáriz, M., & Carmona, J. (2023). Caracterización química y actividad antimicrobiana de los componentes volátiles de Eucalyptus de dos espeies de Venezuela. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas, 52*(1), 91-106. doi: https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v52n1.109361

Xavier, S.P., Victor, A., Cumaquela, G. *et al* (2022).. Inappropriate use of antibiotics and its predictors in pediatric patients admitted at the Central Hospital of Nampula, Mozambique. *Antimicrob Resist Infect Control* 11, 79. https://doi.org/10.1186/s13756-022-01115-w

Zapata, B., Durán, C., Stashenko, E., Betancur-Galvis, L., & Mesa-Arango, A. (2010) Actividad antimicótica y citotóxica de aceites esenciales de plantas de la familia *Asteraceae*. *Revista Iberoamericana de Micología.* 27 (2): 101-103. https://www.elsevier.es/es-revista-revista-iberoamericana-micologia-290-pdf-S1130140610000136

Zurita Malacalupu, S. (2018). Situación de la resistencia antifúngica de especies del género Candida en Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública,* 35 (1) https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3563