



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL
EXTRACTOMETANÓLICO DE MORINDA CITRIFOLIA “NONI” SOBRE CEPAS
DE CANDIDA ALBICANS

Línea de investigación:

Salud pública

Tesis para optar el título Profesional de Cirujano Dentista

Autora:

Medrano Colmenares, Sara Mercedes

Asesor:

Cayo Rojas, Cesar Félix

ORCID: 0000-0002-5560-7841

Jurado:

García Rupaya, Carmen Rosa

Meneses Gómez, Nadia Carolina

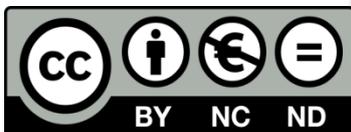
Vargas García, Dalila Liliana

Lima - Perú

2022

Referencia:

Medrano, C. (2022). *Evaluación in vitro de la actitud antifúngica del extractometanólico de morinda citrifolia "noni" sobre cepas de candida albicans* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/5943>



Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



Facultad de Odontología

EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL
EXTRACTOMETANÓLICO DE *MORINDA CITRIFOLIA* “NONI”
SOBRE CEPAS DE *CANDIDA ALBICANS*

Línea de investigación: Salud pública

Tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista

AUTORA:

Medrano Colmenares, Sara Mercedes

ASESOR:

Cayo Rojas, Cesar Félix
(ORCID: 0000-0002-5560-7841)

JURADO:

García Rupaya, Carmen Rosa
Meneses Gómez, Nadia Carolina
Vargas García, Dalila Liliana

Lima-Perú

2022

Agradecimientos

A mi papá, mamá y mi hermano Aarón por acompañarme en esta travesía de la vida, sostener

mi mano con amor y darme la valentía y coraje para afrontar las adversidades, los amo.

A mi asesor, docente y mentor, Dr. César Cayo Rojas, por la motivación, los conocimientos y

el constante apoyo académico y moral hacia mi persona.

A la Dra. Juana Del Valle Mendoza, por su inmensa generosidad y solidaridad al haberme

tendido la mano de la manera más desinteresada.

A mis bellos amigos, quienes me han visto transitar este largo camino, llenándome de ánimos

y haciéndome la vida más bonita.

A Gringo, mi felino, por su cálida compañía en las largas tramos de estudio.

Y a Dios, a la vida o al universo...quién sea que haya puesto en mi camino a las personas

correctas en el momento indicado.

Dedicatoria

A mi hermosa y unida familia, con amor.

A mí, con orgullo.

Índice

Resumen

Abstract

I.	Introducción.....	1
	1.1 Descripción y Formulación del problema.....	2
	1.2 Antecedentes.....	6
	1.3 Objetivos.....	12
	- Objetivo General.....	12
	- Objetivos Específicos.....	12
	1.4 Justificación.....	13
	1.5 Hipótesis.....	14
II.	Marco Teórico.....	15
	2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	15
III.	Método.....	25
	3.1 Tipo de investigación.....	25
	3.2 Ámbito temporal y espacial.....	25
	3.3 Variables.....	25
	3.4 Población y muestra.....	25
	3.5 Instrumentos.....	26
	3.6 Procedimientos.....	26

3.7	Análisis de datos.....	30
IV.	Resultados.....	31
V.	Discusión de resultados.....	39
VI.	Conclusiones.....	44
VII.	Recomendaciones.....	45
VIII.	Referencias.....	46
IX.	Anexos.....	58

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar in vitro la actividad antifúngica del extracto metanólico de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* (Noni) sobre cepas de *Candida albicans*. La muestra fue de 40 pocillos con los extractos y los controles a evaluar, usando clorhexidina al 0.12% como control positivo y agua destilada como control negativo, durante el tiempo de 24 horas. Este estudio fue experimental in vitro y transversal. La actividad fungistática de los extractos fue evaluada por medio de la técnica de difusión en agar (perforación en agar), la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) del extracto se determinó por el método de dilución y sembrado en placa. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de ANOVA y post hoc de Tukey considerando un nivel de significancia $p < 0.05$. Los resultados del estudio muestran que el extracto metanólico de las semillas mostró mayor actividad fungistática frente a *Candida albicans*, seguido del extracto de la pulpa y por último de la cáscara, observándose halos de inhibición de 15.94 mm, 11.94 mm y 11.56 mm respectivamente, encontrando diferencias significativas entre los extractos. Siendo la CMI del extracto metanólico de semillas de 1366,25 mg/ml y la CMF de 2672.50 mg/ml. Concluimos que el extracto metanólico de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* presentó efecto fungistático y fungicida frente a *Candida albicans*, siendo el de mayor actividad antifúngica el extracto de las semillas, lo que permite recomendar el desarrollo de formulaciones farmacológicas efectivas para el control de la candidiasis.

Palabras claves: *Candida albicans*, Candidiasis oral, *Morinda*.

Abstract

The objective of the study was to evaluate the antifungal activity in vitro, of the methanolic extract of the seed, peel and pulp of *Morinda citrifolia* on strains of *Candida albicans* (ATCC® 10231), in a sample of 40 wells with the extracts to be evaluated, using 0.12% chlorhexidine as positive control and distilled water as negative control, for 24 hours. This study was experimental in vitro and cross-sectional. The fungistatic activity of the extracts was determined by means of the agar diffusion technique (perforation in agar), the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum fungicidal concentration (CMF) of the extract were determined by the dilution method and sowing in license plate. Statistical analysis was performed using the ANOVA and Tukey's post hoc test considering a level of significance $p < 0.05$. The results of the study show that the methanolic extract of the seeds showed greater fungistatic activity against *Candida albicans*, followed by the extract of the pulp and finally of the peel, observing inhibition halos of 15.94 mm, 11.94 mm and 11.56 mm respectively, finding significant differences between the extracts. Being the MIC of the methanolic extract of seeds of 1366.25 mg/ml and the CMF of 2672.50 mg/ml. We conclude that the methanolic extract of the seed, peel and pulp of *Morinda citrifolia* presented a fungistatic and fungicidal effect against *Candida albicans*, the seed extract being the one with the highest antifungal activity, which allows us to recommend the development of effective pharmacological formulations for the control of the yeast infection

Keywords: *Candida albicans*, Oral candidiasis, *Morinda*.

I. Introducción

El hongo *Candida Albicans* es un microorganismo comensal que reside en diferentes partes del organismo del ser humano sano, sin embargo, en aquellos individuos cuyo sistema inmune se ve desequilibrado, se convierte en el agente etiológico responsable de la candidiasis oral, la infección micótica oportunista más común en la cavidad bucal. Según el MINSA, la candidiasis oral afectaría entre el 40 a 70% de los niños y adultos sanos, observándose una mayor tasa en niños con mayor incidencia de caries y en adultos portadores de prótesis dentales.

Diversos factores están asociados a su desarrollo patogénico; desde factores locales como el uso de aparatos dentales protésicos, xerostomía, traumas, entre otros; así como factores sistémicos, como la edad (mayor en ancianos), hábitos de consumo de tabaco, la administración de antibióticos, el uso de inmunosupresores, antineoplásicos, ciertas enfermedades como la diabetes mellitus, y está íntimamente relacionada con el virus de la inmunodeficiencia humana adquirida (VIH), teniendo gran relevancia en esta última, ya que en estos pacientes podría llevar a una diseminación multiorgánica debido al compromiso del sistema inmune.

Actualmente, gracias a la diversidad que existe en nuestro país, contamos con una gran riqueza en flora y fauna, donde las propiedades de las plantas medicinales y la gran repercusión benéfica que han tenido en la población siempre han despertado el interés de la ciencia, quien se ha apoyado en la botánica para la producción de medicamentos farmacéuticos y que incluso aun la sigue sometiendo a procesos experimentales para mejorar sus efectos o crear nuevos antídotos.

El noni, especie botánica de origen asiático, cultivado en nuestro país, ha demostrado en diversos estudios tener propiedades antitumorales, anticancerígenas antiinflamatorias y

antimicrobianas, seguramente atribuidas a sus diversos componentes, tales como, los iridoides, las antraquinonas como el damnacanthal, los ácidos y los alcaloides que posee.

En el Perú es muy consumido por un gran porcentaje de la población, quienes a pesar del característico aroma y sabor que posee, lo consumen deseando recuperar la salud y atribuyéndole el éxito de haber superado sus enfermedades. *Morinda citrifolia* es comercializado en distintas presentaciones, encontrándose comúnmente como jugo de noni, aunque cada vez es más comercializado de manera industrial por algunas casas bionaturistas quienes le podrían añadir otros componentes más para permitir su conservación a lo largo del tiempo.

Para el desarrollo de esta investigación, se realizó una búsqueda minuciosa y se seleccionó una serie de artículos actualizados, que sirvieron de base para los procedimientos realizados con el fin de lograr resultados óptimos y alcanzar los objetivos planteados.

La presente investigación fue de tipo experimental in vitro, analítico, prospectivo y transversal, con cuyo diseño se pudo responder a la interrogante que motivo al estudio.

1.1 Descripción y Formulación del Problema

La salud bucal es definida por la OMS como «un estado libre de dolor, cáncer, infecciones, periodontopatías, caries dental, pérdida de dientes y otras enfermedades que limiten la capacidad de una persona para masticar, sonreír y hablar, así como su bienestar psicosocial». Según un trabajo de investigación en el 2016 sobre la carga mundial de morbilidad, las patologías bucodentales afectan a 3580 millones de personas, aproximadamente la mitad de la población mundial (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2020; Cayo et al., 2021). Entre las enfermedades más comunes que afectan a la cavidad oral de los humanos esta la candidiasis, una enfermedad fúngica multifacética que incluye infecciones de la mucosa y la piel, causadas por levaduras del género *Candida*.

(Bhattacharya, 2020).

Los datos del Fondo de Acción Mundial para las Infecciones Fúngicas indican como pronóstico alrededor de 300,000 casos de candidemia por año en todo el mundo. Siendo la candidiasis oral, una infección común adicional de *Candida* en la mucosa, la que afecta a más de 9 millones de personas en todo el mundo (Global Action Fund for Fungal Infections [GAFFI], 2019). La *Candida albicans* habita de manera natural en la cavidad bucal y hasta el 80% de la población general son portadores asintomáticos de esta levadura (Vila et al., 2020), ya que existe un equilibrio entre los mecanismos de defensa del individuo y el potencial invasivo por parte de las levaduras. Sin embargo, se ha reportado que existen factores que pueden provocar el desequilibrio ecológico del medio oral, causando la transición del hongo de comensal a patógeno, dentro de estos factores locales se consideran la reducción del flujo salival, uso de dentaduras postizas, inhaladores de corticosteroides y trauma local con pérdida de la integridad tisular; mientras que los factores sistémicos incluyen la disminución de los mecanismos de defensa del hospedero, disminución de las inmunoglobulinas, inmunidad disminuida secundaria a la edad, debilidad general, estados de malnutrición, dietas alta en carbohidratos, déficit de hierro, ácido fólico o vitamina B12, desórdenes endocrinos como hipotiroidismo, enfermedad de Addison y diabetes mellitus, infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), alteraciones de la sangre tales como leucemia aguda y agranulocitosis, antibioticoterapia prolongada, quimioterapia y radioterapia (Baumgardner, 2019; Serrano, 2020; Suryana, 2020).

Actualmente ha aumentado el uso clínico de agentes antimicóticos, provocando fármaco resistencia a los antimicóticos, por ello, aunque los hongos pueden ser intrínsecamente resistentes a estos medicamentos (resistencia primaria), también pueden desarrollar resistencia en respuesta a la exposición al fármaco durante el tratamiento (resistencia secundaria), debido a su uso indiscriminado o automedicación (Revie, 2018). A

razón de esto, la población se ve en la necesidad de buscar otras alternativas para tratar las infecciones causadas por hongos, como la fitoterapia (Carrizo, 2020).

Los medicamentos de origen vegetal tienen un enorme potencial terapéutico y estos efectos se deben en su mayoría a sus metabolitos secundarios como alcaloides, esteroides, taninos y compuestos fenólicos, flavonoides, resinas, ácidos grasos, entre otros (Wang, 2021; Paucar, 2021). Dentro de estos productos naturales se cuenta con la *Morinda citrifolia*, también conocida como Noni, siendo muy usada en la medicina alternativa y complementaria de Latinoamérica, ya que sus partes, como las raíces, hojas frutos y semillas son utilizadas para el control de enfermedades (Paula, 2016; Nápoles, 2016; Sousa, 2017, Barbosa, 2017; Torres, 2018).

Algunos reportes han identificado dentro de sus propiedades, que actúa como inmunoestimulante, antitumoral, antidiabético, antibacteriano y antifúngico, antiviral, antiinflamatorio, y analgésico, así como dentro del campo odontológico ha demostrado ser importante en la regeneración de tejido periodontal (Torres, 2017; Castillo, 2014; West, 2012).

Algunos estudios atribuyen sus propiedades antimicrobianas de la *Morinda citrifolia* a los flavonoides, cumarinas, quinonas e iridoides (Castillo, 2014; West, 2012). Ruiz et al. (2010), realizaron un estudio para hacer la identificación preliminar de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de *Morinda citrifolia* identificando que el extracto del fruto tenía un porcentaje de 0.032% de flavonoides totales, mientras que el extracto de las hojas tenía un porcentaje de 0.191%; siendo evidente que estos compuestos se encontraban en diferentes proporciones en las distintas partes de la planta. Deng et al. (2010), encontraron que los iridoides estaban presentes en diversas partes de la planta, siendo la fuente principal el fruto y, además había una gran variación del contenido de iridoides según la zona geográfica donde se desarrollaba el fruto, lo que podría significar que la *Morinda citrifolia* presente variación

de la composición química dependiendo del lugar donde se cultiva, constituyendo un factor relevante a considerar al evaluar su acción antifúngica.

Diversos estudios han reportado una buena actividad antifúngica del extracto del fruto de *Morinda citrifolia* a diversas concentraciones frente a *Candida albicans*. Encontrándose que a una mayor concentración del extracto existe una mayor actividad antifúngica (West, 2012; Barani, 2014; Jainkittivong, 2009). Mientras que otros estudios (Castillo, 2014; Jayaraman, 2008), reportaron resultados discrepantes en cuanto a la actividad antimicótica del extracto de *Morinda citrifolia* frente a *Candida albicans*. La mayor parte de las investigaciones que evalúan la acción antifúngica de *Morinda citrifolia* se han llevado a cabo en Asia (Barani, 2014; Jainkittivong, 2009; Kumar, 2010); mientras que, en el Perú aún no se han realizado estudios sólidos que evalúen su acción antifúngica frente a *Candida albicans*, considerando su concentración mínima inhibitoria y fungicida.

En este trabajo se utilizó extracto metanólico de *Morinda citrifolia* “Noni” a diversas concentraciones, en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y se evaluó su efecto antifúngico comparando las diferentes concentraciones con el control positivo (clorhexidina 0,12%).

Sabiendo de la abundancia de los recursos naturales del Perú, y conociendo las propiedades que tiene *Morinda citrifolia* para que pueda ser usado como alternativa a la medicina convencional para combatir la candidiasis orofaríngea, y resaltando el hecho de que no hay estudios previos realizados que evalúen la actividad antifúngica de *Morinda citrifolia* contra *Candida albicans* en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal; es que surge la siguiente interrogante:

¿Cuál es la actividad antifúngica del extracto metanólico de *Morinda citrifolia* (Noni) frente a *Candida albicans*?

1.2 Antecedentes

Ayala et al. (2018). Realizaron un estudio en Lima-Perú con el objetivo de determinar la actividad antifúngica del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* en cultivos de *Cándida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*. El estudio fue de tipo analítico, experimental, prospectivo y longitudinal. El análisis de la actividad antifúngica fue por difusión en agar, en donde se evaluó el extracto acuoso de noni al 100%, 75%, 50%; como controles positivos se utilizaron fluconazol 150mg y clotrimazol 1%, mientras que como control negativo se usó suero fisiológico. Se empleó la prueba T de Student y como resultado se obtuvo que el extracto acuoso de *Morinda citrifolia* al 50% tuvo un grado de eficacia en la inhibición del crecimiento de *Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae* de 6.72 ± 0.37 mm a las 24 horas y de 5.83 ± 0.51 mm a las 48 horas. Al 75% de 15.80 ± 0.73 mm y 15.98 ± 0.70 mm a las 24 y 48 horas respectivamente; y al 100% de 10.81 ± 0.79 mm y 8.24 ± 0.75 mm a las 24 y 48 horas respectivamente. Concluyendo que el extracto acuoso de *Morinda citrifolia* al 100 % demostró mayor sensibilidad que la concentración de 50%. Sin embargo, la concentración al 75 % demostró un rango superior de sensibilidad frente a las muestras de *Cándida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae* a las 24 y 48 horas.

Herrera (2017). Realizó un estudio en Quito-Ecuador, cuyo objetivo fue evaluar y comparar la efectividad antimicrobiana de los extractos hidroalcohólicos de jengibre y noni al 0.62% y 2.5% sobre cepas de *S. mutans* y *C. albicans*. El estudio fue de tipo experimental in vitro. Se aplicó el método de difusión en disco (*Kirby - Bauer*), y se usó Gluconato de Clorhexidina al 0.12% como control positivo. Se usaron un total de 12 placas Petri para el *S. mutans* y 12 para la *C. albicans* y se aplicó la prueba paramétrica T Student. Los resultados indicaron que los extractos del noni tuvieron mayor efectividad sobre cepas de *Cándida albicans* dando un halo de inhibición de 11mm (0.62%) y 15 mm (2.5%). Mientras, frente a cepas de *Streptococcus mutans* dieron halos de 10mm (0.62%) y 10.21mm (2.5%). Los

extractos del jengibre frente a *Cándida albicans* presentaron halos de inhibición muy bajos 0.67mm (0.62%) y 1.83 mm (2.5%); a diferencia con el *Streptococcus mutans* que presentó halos de inhibición de 5.86 mm (0.62%) y 11.64 mm (2.5%). Concluyendo que el Noni presenta un efecto antimicrobiano mayor en relación con el extracto de jengibre en cepas de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans*.

Barani et al. (2014). Pusieron a cabo un estudio en la India que tuvo por objetivo investigar la actividad antifúngica del extracto de *Morinda citrifolia* sobre *Candida albicans*. El estudio fue experimental in vitro. El efecto inhibitor del extracto se determinó mediante cultivo en agar y ensayo de dilución en caldo, se evaluaron diferentes concentraciones del extracto (1000 µg, 500 µg, 250 µg y 100 µg) y se utilizó dimetilsulfóxido como control negativo y anfotericina B (10 µg / disco) como control positivo. Se realizó una prueba t independiente y los resultados mostraron que el extracto de *M. citrifolia* a una concentración de 1000 µg / ml inhibió eficazmente el crecimiento de *C. albicans* ($16,6 \pm 0,3$) en comparación con el control positivo anfotericina B ($20,6 \pm 0,6$), seguida de una concentración de 500 µg / ml ($13,6 \pm 0,3$), 250 µg / ml ($8,6 \pm 0,3$) y 100 µg / ml ($8,3 \pm 0,3$). Observándose que el patrón de inhibición aumentaba a medida que la concentración del extracto también. Concluyendo que el extracto de *Morinda citrifolia* tuvo un efecto antifúngico sobre *Candida albicans* y el efecto inhibitor varió de acuerdo a la concentración.

Castillo et al. (2014). Realizaron un estudio en La Habana-Cuba, con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de los extractos de hojas y semillas de *M. citrifolia* L preparados con diversos solventes, e identificar mediante cromatografía de capa fina los principales metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana frente a cepas de *E. coli* (ATCC 113-3), *S. aureus* (ATCC29737) y 3 cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida sp.* por el método de Kirby- Bauer. Las muestras fueron secadas, a partir de la droga cruda que se obtuvo se prepararon tinturas al 20 %. La extracción

se realizó mediante maceración. Los extractos secos se obtuvieron a partir de las tinturas, concentrando 200 mL con ayuda de un rotavapor. Para separar los compuestos orgánicos se realizó la extracción con hexano, cloroformo y acetato de etilo mediante una extracción sucesiva. Para la prueba se resuspendieron los extractos secos, obteniendo una concentración final de 100 mg/mL. Se cargaron los discos con las soluciones obtenidas y se efectuó la lectura a las 24 y 48 h de incubación para las bacterias y el hongo respectivamente. Los resultados indicaron que el extracto seco de las hojas mostró el mayor halo de inhibición frente a las cepas de *E. coli* salvaje y ATCC, siendo de 9 a 10 mm. Frente a *Candida sp* la tintura de las semillas mostro un halo de inhibición de 13 mm y el extracto seco, de 12 mm. El extracto de hojas que uso como solvente el hexano mostro un halo de inhibición de 9 mm frente a la cepa de *E. coli* salvaje, mientras que con *E. coli* (ATCC 113-3) los extractos hexánico, clorofórmico y de acetato de etilo, mostraron halos de inhibición entre 7 y 8 mm. Los extractos hexánico y clorofórmico mostraron halos de inhibición de entre 9 y 10 mm frente a la cepa de *S. aureus* salvaje, pero con la cepa ATCC, los tres extractos mostraron halos de entre 7 y 8 mm. La acción antifúngica contra *Candida sp* solamente se observó con el extracto hexánico con un halo de inhibición de 10 mm. El extracto de acetato de etilo de la semilla obtuvo el mejor resultado frente a la cepa de *E. coli* salvaje con un halo de 9 mm, mientras que con la cepa ATCC los extractos clorofórmicos y de acetato de etilo mostraron halos entre 7 y 8 mm. Los mejores resultados de actividad antibacteriana frente a *S. aureus* salvaje se observaron con halos de inhibición entre 7 y 10 mm. En cuanto a la actividad antifúngica de las semillas contra *Candida sp*, los tres extractos formaron halos de inhibición que oscilaron entre los 8 y 12 mm. No se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las tinturas y los extractos secos de hojas y semillas de *M. citrifolia*. Notándose una mejor respuesta de los extractos secos frente a las bacterias y hongos. Concluyendo que todos los extractos evaluados de las hojas y semillas de *M. citrifolia* L (noni) tuvieron actividad

antimicrobiana frente a las cepas estudiadas.

West et al. (2012). Realizaron un estudio en Utah-USA, cuyo objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana de los iridoides en la fruta *Morinda citrifolia* (noni). El estudio fue de tipo experimental. Se preparó un extracto rico en iridoides de frutos de noni y se incubó con alícuotas de cultivos de veinticuatro horas de *Candida albicans*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a concentraciones de iridoides totales de 0.096, 0.19, 0.45, 0.82 y 1.41 mg / mL. El análisis por cromatografía líquida de alta eficacia del extracto de n-butanol reveló la presencia prominente del ácido asperulosídico y ácido desacetilasperulosídico, representando el 5.13 y 5.24% del extracto respectivamente. El crecimiento microbiano de las muestras se midió mediante densidad óptica a 600 nm, mediante espectrofotómetro. Los tres organismos experimentaron disminuciones dependientes de la concentración en el crecimiento del cultivo celular. De los tres organismos, *C. albicans* fue el más sensible a la actividad antimicrobiana de los iridoides. A 0,8 mg de iridoides / ml, se detuvo todo el crecimiento de *C. albicans*. A la misma concentración, gran parte del crecimiento de *E. coli* se suprimió, pero el cese completo del crecimiento se dio con la concentración de 1,4 mg de iridoides / mL. Mientras que la sensibilidad de *S. aureus* a la concentración de iridoides fue menor que la de los otros dos organismos, teniendo una respuesta más lineal con cada una de las concentraciones evaluadas. Concluyendo que la actividad antimicrobiana de la fruta de noni se debe a la presencia de iridoides, y que esta es dependiente de la concentración.

Usha et al. (2010). Hicieron un estudio en La India que tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos de hojas de *M. citrifolia*. Utilizaron diferentes disolventes como benceno, cloroformo, acetato de etilo, etanol y agua. Se utilizaron cuatro organismos: *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. Se comprobó la actividad de cada extracto mediante el método de difusión en disco. Se utilizaron concentraciones de 10 mg / ml, 5 mg / ml y 2 mg / ml. Como control negativo se

usó dimetilsulfóxido y como control positivo se usó Gentamicina y Nistatina. Los resultados mostraron que la inhibición máxima frente a *E. coli* se mostró con el extracto de éter de petróleo a 10 mg/ml, mostrando un halo de inhibición de 20 mm. *Staphylococcus aureus* fue susceptible al extracto acuoso de 10 mg/ml con un halo de inhibición máximo de 20 mm. La máxima inhibición contra *C. albicans*, se observó con el extracto de cloroformo a 10 mg/ml dando un halo de inhibición de 19 mm. El extracto acuoso de 10 mg/ml mostró un halo de inhibición de 18 mm contra *A.niger*. Concluyendo que los resultados obtenidos del ensayo mostraron que hubo un efecto creciente sobre la inhibición del crecimiento microbiano al aumentar la concentración del extracto.

Kumar et al. (2010). Realizaron un estudio en La India, que tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana y antihelmíntica del éter de petróleo y el extracto alcohólico de las hojas de *Morinda Citrifolia L.* (Noni). La muestra estuvo conformada por cepas de hongos *Candida albicans* y *Aspergillus niger*, cepas de *E. Coli*, *Bacillus Subtilis* y *Staphylococcus aureus* y 24 lombrices indias adultas "*Pheretima posithuma*". El estudio fue de tipo experimental y la actividad antimicrobiana se determinó mediante el método de difusión por disco, mientras que la actividad antihelmítica, por observación directa. Se utilizó como control positivo tetraciclina (10 µg / ml) y Piperazine citrate (10mg/ml). En los resultados se encontró que el extracto alcohólico de 10 mg / ml producía una mayor actividad antimicrobiana, dando halos de inhibición de 2 cm para *B. Subtilis*, de 2.4 cm para *E. Coli*, de 2.1 cm para *S. Aureus*, de 2.5cm para *C. Albicans* y de 2.9 cm para *A. Niger*. Siendo comparable con el fármaco tetraciclina. A su vez, el extracto alcohólico a una dosis de 100 mg / ml tuvo una actividad antihelmíntica significativa mientras que el éter de petróleo mostró una actividad moderada. Concluyendo que con el extracto alcohólico de *Morinda citrifolia L.* (Noni), se podrían desarrollar algunos fármacos útiles para el tratamiento de la acción antimicrobiana.

Jainkittivong et al. (2009). Hicieron un estudio en Tailandia, con el objetivo de investigar la actividad antifúngica del extracto del fruto de *Morinda citrifolia* contra *Candida albicans*. El estudio fue de tipo experimental. El extracto de jugo de la fruta de *M. citrifolia* se liofilizó y se utilizó en pruebas antifúngicas. La actividad antifúngica se probó in vitro a diversas concentraciones (10, 20, 30, 40, 50 y 60 mg/ml) y para diferentes tiempos de contacto (15, 30, 45, 60, 75 y 90 minutos). Los controles positivos fueron placas de agar sin extracto en cada experimento. Los resultados mostraron que no se detectó el crecimiento de *C. albicans* con el extracto de 50 mg/ml en un tiempo de contacto de 30 minutos o con el extracto de 60 mg/ml en un tiempo de contacto de 15 minutos. Mediante la prueba de dilución en caldo, la concentración mínima fungicida del extracto contra *C. albicans* fue de 40 mg/ml en el tiempo de contacto de 90 minutos o con 50 mg/ml en el tiempo de contacto de 15 minutos. Se concluyó que el extracto de fruta de *M. citrifolia* tuvo efecto antifúngico contra *C. albicans* y el efecto inhibitorio varió dependiendo de la concentración y el tiempo de contacto. Dosis superiores a 40 mg/ml podrían ser útiles para aplicaciones clínicas.

Jayaraman et al. (2008). Hicieron un estudio en La India, que tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana, antifúngica y antitumoral de los frutos de *M. citrifolia* extraídos con tres disolventes: metanol, acetato de etilo y hexano. La muestra estuvo conformada por cepas de *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Penicillium sp*, *Fusarium sp*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor sp*, *Rhizopus sp* y *Aspergillus flavus* para evaluar la actividad antifúngica; y por *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Vibrio harveyi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Salmonella paratyphi A*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholerae*, *Chromobacterium violaceum* y *Enterobacter faecalis* para evaluar la actividad antibacteriana. Como control se usó dimetilsulfoxido (DMSO). El ensayo antitumoral se realizó en células de epiteloma laríngeo

humano (HEp2) que se expusieron a diversas diluciones del extracto de fruta. La viabilidad celular se midió usando el ensayo MTT, usando MTT (5 mg / mL) y DMSO. Los resultados indicaron que la inhibición máxima se registró contra *Salmonella paratyphi A* con los extractos de metanol (27 mm) y acetato de etilo (16 mm). El extracto de acetato de etilo fue eficaz contra la mayoría de los microorganismos probados, excepto *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. El extracto de acetato de etilo registró una actividad significativa contra *Salmonella paratyphi A* (16 mm), *Chromobacterium violaceum* (12 mm), *Aeromonas hydrophila* (11 mm). El extracto de hexano fue ineficaz contra las bacterias gram positivas y gram negativas analizadas. El porcentaje máximo de inhibición frente a *Trichophyton mentagrophytes* se dio con los extractos de metanol (79,3%) y acetato de etilo (62,06%). Se registró una inhibición de casi el 50% contra *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.* y *Rhizopus sp.* con el extracto de metanol. El extracto de hexano exhibió el menor porcentaje de inhibición contra todos los cultivos de hongos. Ninguno de los extractos mostró actividad significativa contra las especies de *Candida albicans* y *Aspergillus*. El extracto metanólico mostró máxima citotoxicidad en células HEp2 seguido por extracto de acetato de etilo. Los extractos de hexano no mostraron actividad sobre las células HEp2. Concluyendo que la mayor actividad antibacteriana, antifúngica y antitumoral se dio con el extracto metanólico, lo que indicaría que la mayoría de los componentes activos se extraen con metanol.

1.3 Objetivos

Objetivo General

Evaluar in vitro la actividad antifúngica del extracto metanólico de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* (Noni) sobre cepas de *Candida albicans*.

Objetivos Específicos

1. Determinar la actividad fungistática del extracto metanólico de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* (Noni) sobre cepas de *Candida albicans*.

2. Comparar el efecto antifúngico del extracto metanólico de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* (Noni) y la clorhexidina 0.12% sobre cepas de *Candida albicans*.
3. Determinar la actividad fungicida del extracto metanólico de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* (Noni) sobre cepas de *Candida albicans*.
4. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto metanólico de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* (Noni) sobre cepas de *Candida albicans*.

1.4 Justificación

La ejecución del presente estudio tiene una justificación teórica porque nos proporcionará evidencia científica verídica acerca del efecto antifúngico de *Morinda citrifolia* (Noni) sobre *Candida albicans*, que es un hongo que está íntimamente relacionado junto con los demás microorganismos de la boca en la colonización y daño a las principales estructuras de la cavidad bucal, como la mucosa, lengua y paladar, además de afectar la calidad de vida y salud psicoemocional de las personas si se da el desarrollo de la candidiasis oral, que es una enfermedad que afecta principalmente a pacientes cuya inmunidad se ve desequilibrada, como aquellos que están recibiendo algún tratamiento antineoplásico, niños o personas de la tercera edad portadores de prótesis dentales o a aquellos con enfermedades sistémicas que comprometan su sistema inmunológico, como el Síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (VIH). Por su carácter epidemiológico, la candidiasis oral resulta de gran importancia de estudio sobre las variedades terapéuticas para poder abordarla. Este estudio tiene justificación clínico-práctico, porque pretende indagar, explorar y profundizar en el estudio de la *Morinda citrifolia* para utilizarlo como un producto natural ideal que contribuya a combatir eliminando o disminuyendo las colonias de estos microorganismos, y tiene una justificación social ya que el presente trabajo sirve como base para establecer un efecto de carácter antifúngico a *Morinda citrifolia* (Noni) contra la *Candida albicans* y con los resultados del estudio poder proponer alternativas naturales de tratamiento que puedan ser

utilizadas, como colutorios, pastales dentales y topicaciones a manera de opción terapéutica de un producto natural, eficaz y económico; entre una variedad de terapias para poder prevenir y combatir la candidiasis oral y de esta manera aportar a mejorar la calidad de vida de los pacientes. De la misma forma se esperará que los resultados obtenidos incentiven a que futuros investigadores quieran elaborar más estudios aportando al desarrollo de este tema.

1.5 Hipótesis

El extracto metanólico de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* (Noni) presentaría actividad antifúngica sobre cepas de *Candida albicans*.

II. Marco Teórico

2.1 Bases Teóricas

2.1.1 *Cándida Albicans*

2.1.1.1 Descripción y Características. Hongo dimórfico grampositivo, anaerobio facultativo que se reproduce de forma asexual por gemación (Pardi y Cardozo, 2002).

Pueden crecer como brotes de levadura ovoides (blastospora), como células elipsoides elongadas que permanecen adjuntas a un sitio de separación constreñida (pseudohifas) o como hifas verdaderas que se alinean verdaderamente (Jacobsen, et al., 2012).

En forma de levadura (blastospora) se desarrolla a 37°C en el huésped, presenta forma física de células redondeadas, de 3-8 x 2-7 micras dispuestas en agrupaciones pequeñas y como hongo en forma de hifa a 25°C en la naturaleza, sus células crecen en longitud y se diversifican en filamentos, pseudohifas o pseudomicelios. Como levadura actúa como saprofita y convive simbióticamente con el huésped y en forma de hifa, se comporta como un parásito patógeno. Esta morfología ambigua le permite superar con éxito los mecanismos de defensa que se le atribuyen a la inmunidad celular del huésped (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo [INSHT], 2012).

Cándida albicans es un colonizador comensal que reside inofensivamente en aproximadamente el 50% de los individuos y está bajo control por nuestro sistema inmune, es miembro de la microbiota humana saludable, colonizando asintóticamente diferentes nichos de acogida como la mucosa oral, la piel, el tracto gastrointestinal y tracto reproductivo femenino (Gulati y Nobile, 2016; Da Silva Dantas et al., 2016).

Convive en armonía con otros miembros de la microbiota, pero variaciones en el pH o cambios nutricionales, así como el uso de antibióticos o alteraciones en el sistema inmune pueden ocasionar que *C. albicans* prolifere rápidamente y cause infecciones (Gulati y Nobile, 2016).

2.1.1.2 Factores de virulencia.

a. Quórum sensing. Sirve para la comunicación microbiana mediante la interacción entre las células y el medio ambiente que los rodea. Permiten a *C. albicans* relacionarse entre sí, desarrollando un comportamiento de tipo cooperativo (De la Calle et al., 2012, Mayer et al., 2013).

b. Morfogénesis. Es el cambio reversible entre las células en forma de levadura y la forma filamentosa (hifa o pseudohifa) (Lohse et al., 2018).

c. Cambio fenotípico. Capacidad de variar el fenotipo generando variantes dentro de poblaciones infectantes (Singh et al., 2014). También se denomina sistema de conmutación de plasticidad fenotípica o biestable (blanco a opaco) o sistema de conmutación precedero (blanco a gris a opaco) (Tao et al., 2014).

d. Enzimas hidrolíticas secretadas. Además de facilitar el suministro de nutrientes están involucradas en la invasión de *Cándida* mediante la digestión de la membrana celular del huésped, la adhesión mediante la degradación de las moléculas de la superficie celular del huésped y la resistencia a la inmunidad del huésped a través del ataque al sistema inmune (Pereira et al., 2015). *C. albicans* secreta tres tipos de hidrolasas: proteasas, fosfolipasas y lipasas (Mayer et al., 2013).

e. Adherencia. La adhesión puede ocurrir en células epiteliales de la boca y en materiales de polimetilmetacrilato (prótesis dentales) con componentes tipo lectina que actúa como mediador de la adhesión (Nasution, 2013). La expresión máxima de adherencia de este hongo es la formación de biopelículas, que por sí solo constituye gran mecanismo de patogenicidad (Mayer et al., 2013).

f. Hidrofobicidad de la superficie celular. Implicado en la adhesión a la superficie de la mucosa. Está conectado con la adhesión y el proceso patogénico de *C. albicans*. Factor

de virulencia importante conferido por las proteínas de superficie manosiladas que cubren las células fúngicas. La hidrofobicidad se altera como respuesta a los cambios ambientales y puede cambiar a un fenotipo hidrofílico (Pereira et al., 2015).

g. Formación de biopelículas. Son comunidades multicelulares en crecimiento en la superficie de los tejidos o habitando dispositivos como prótesis dentales. Presenta resistencia medicamentosa, debido a heterogeneidad de la morfología (levadura o hifa) y del estado metabólico (Berman, 2012). Forman una asociación constituida por levaduras e hifas dentro de una matriz extracelular (De la Calle et al., 2012). La formación de la biopelícula se da en tres fases: temprana (0-11 horas), intermedia (12-30 horas) y madura (38-72 horas) (Castrillón et al., 2005). La mayoría de infecciones por *C. albicans* están asociadas a su capacidad de formar biofilms (Tsui et al., 2016).

La infección por este hongo se divide en dos grupos, una que afecta a las mucosas y a la piel y una que es invasora. A nivel de las mucosas encontramos diferentes mecanismos de defensa, entre ella proteínas salivales como lactoferrina, mucinas, Ig A, que hacen difícil la adhesión y el crecimiento de estos microorganismos en la orofarínge. Las células del epitelio secretan IL-8 en respuesta al aumento de número de colonias de *Cándida* en las mucosas.

También se sabe que la IgE y los linfocitos Th 17 son las principales defensas de la mucosa. Una vez superado el epitelio empieza la invasión por *Cándida* (García-Vidal y Carratalà, 2012).

2.1.2 Candidiasis Oral

La candidiasis oral es una infección común adicional de *Candida* en la mucosa, que afecta a más de 9 millones de personas (Segal y Frenkel, 2018).

Este hongo es un organismo comensal en las superficies de la mucosa, pero cuando las condiciones adversas sobreviven particularmente en aquellos pacientes con el virus de inmunodeficiencia humana u otras poblaciones inmunes comprometidas, es capaz de causar

candidiasis superficial, así como profunda e invasiva, por tal motivo se le suele considerar “la enfermedad de la enfermedad”. Una serie de factores predispone al paciente a tener infecciones locales tales como la alteración del ecosistema de la mucosa, cambios en el ecosistema microbiano por terapia antibiótica o con corticosteroides, hipotiroidismo, enfermedad de Addison, diabetes mellitus, leucemia aguda, síndrome de Sjogren y el uso de prótesis dentales mal ajustadas (Matsubara et al., 2016).

2.1.2.1 Formas de Candidiasis Oral.

a. Candidiasis Pseudomembranosa. Es la presentación clásica, conocida como “muguet”. Se observa comúnmente en recién nacidos y en pacientes inmunocomprometidos. Se presenta como placas blancas confluentes que se quitan fácilmente con gasa dejando una superficie eritematosa y están en la lengua, mucosa bucal, paladar duro y blando, y orofarínge. Estas lesiones son causadas por el sobrecrecimiento de levaduras con descamación de las células epiteliales y acumulación de queratina, fibrina, tejido necrótico e hifas del hongo (Hellstein y Marek, 2019).

b. Candidiasis Hiperplásica. Se presenta como placas blancas translucidas bien circunscritas, ligeramente elevadas adheridas a la mucosa bucal, a veces a la comisura labial y en menor proporción en la zona lateral de la lengua. A diferencia de la lesión ya descrita antes, esta no se puede quitar al frotar con una gasa, tiene una alta incidencia en aquellos consumidores de tabaco. Es difícil de distinguir de una leucoplasia y ha sido asociado a un incremento de los cambios malignos (Millsop y Fazel, 2016).

c. Candidiasis Atrófica. Se presenta en una forma aguda y crónica, se asocia mayormente al uso prolongado de antibióticos, es la única lesión por *Cándida* asociada al dolor, generando una sensación de quemazón. Clínicamente se observan zonas localizadas eritematosas que duelen en el dorso de la lengua, presentándose como áreas depapiladas (Patil et al., 2015).

d. *Glositis Rhomboidal Media.* Aparece como atrofia papilar central de la lengua, específicamente alrededor de la línea media del dorso de la lengua, creciendo como un área bien delimitada, simétrica y depapilada, anterior a la papila circunvalada (Patil et al., 2015).

e. *Eritema Linear Gingival.* Muy asociado a las infecciones por HIV, aparece como una distinta banda lineal de eritema a lo largo del margen gingival libre. Su tratamiento puede incluir debridamiento, irrigación con yodopovidona, enjuagues con clorhexidina y terapia antimicótica (Neville et al., 2019).

f. *Candidiasis Mucocutánea Crónica.* La sintomatología inicia en la infancia, afectando a la piel, las mucosas y las uñas, pero pueden afectar otros órganos. Además de estar asociada a enfermedades autoinmunes también está asociada a endocrinopatías como hipotiroidismo, enfermedad de Addison, anemia hemolítica autoinmunitaria o anemia perniciosa. Su manejo consiste en el tratamiento de las infecciones secundarias al déficit inmunológico y de las endocrinopatías (Delgado et al., 2013).

g. *Cheilo Candidiasis.* Es una infección de la piel de alrededor de los labios, causada por acciones que mantienen la piel húmeda como lamerse los labios constantemente, chuparse el dedo y el uso de productos a base de petrolato (vaselina). Clínicamente empieza como una queilitis angular con lesiones eritematosas, fisuradas, con descamación y costras en las comisuras labiales (Pinel et al., 2012) pero los constantes factores ya mencionados hacen que la capa de queratina de la epidermis se selle de humedad, permitiendo prosperar a la Cándida (Neville et al., 2019).

h. *Candidiasis Multifocal Crónica.* Trastorno crónico y refractario que se presenta de forma muy ocasional y afecta a la mucosa oral, piel y uñas, siendo su característica principal la presencia de Muguet persistente. Su etiología se basa a un defecto inmune subyacente por enfermedades como endocrinopatías, anemia ferropénica y otros defectos inmunitarios;

causando un defecto en la producción de citoquinas como respuesta a la presencia de microorganismos como *C. albicans* (Tapia, 2011).

2.1.3 Fitoterapia

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) es la “Ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal, con fines terapéuticos, ya sea para prevenir, atenuar, o curar un estado patológico”. Su óptimo desempeño funcional, depende de cómo se ha recolectado y conservado la planta medicinal. El uso de cualquier producto de origen vegetal con fines medicinales, debe cumplir principios básicos como seguridad, calidad o eficacia, teniendo presente que cualquier producto aprobado para el consumo humano, no puede basarse solo en empirismos (Torres y Castro, 2014).

La OMS resalta la relevancia de las plantas medicinales de manera preventiva y como tratamiento de las enfermedades, así como también su importancia en el aspecto económico, al pensarse que en ciertos casos resulta más económico comparado al costo de sintetizar un nuevo fármaco. El interés científico en investigar la riqueza y variabilidad de las plantas medicinales, ha impulsado su empleo en diversas poblaciones del mundo, siendo considerada una forma de apoyar la cura, basándose en la evidencia científica. La fitoterapia utiliza sustratos vegetales complejos, a partir de plantas enteras o de sus partes, como hojas, raíces, etc., y también derivados de éstos que resulten de procesamientos con algún disolvente, que son los llamados extractos, los cuales concentran sus principales compuestos y hacen más fácil su administración y consumo (Avello y Cisternas, 2010).

2.1.4 *Morinda Citrifolia* (Noni)

Planta tropical, comestible, usada por los polinesios en la medicina popular por alrededor de 2000 años, comúnmente conocida como Noni, entre otros nombres alrededor del mundo. Es nativa de las islas de pacífico, Hawái, El Caribe, Asia y Australia. Se encuentra en

áreas abiertas costeras y forestales hasta los 1300 msnm, se adecua a condiciones ambientales extremas y puede crecer en suelos ácidos, alcalinos e infértiles, áreas húmedas o secas. Sus hojas son de forma oval, miden entre 20 a 25 cm, de color verde oscuro. Su fruta es amarilla y puede crecer hasta los 12 cm, tiene una superficie grumosa con muchas áreas en forma poligonal. La fruta está cubierta con hoyos de color marrón dorado que contienen cuatro semillas. Cada semilla tiene un saco de aire al final, lo que ayuda a flotar en el agua facilitando la polinización. La fruta inmadura es de color verde, a medida que madura se va tornando color blanco y emana un olor bastante fuerte (Ali et al., 2016; Saminathan et al., 2013).

2.1.4.1 Taxonomía. El género *Morinda* pertenece a la familia Rubiaceae y tiene más de 80 especies, siendo la más popular *Morinda citrifolia* (Hong et al., 2019).

Su clasificación es la siguiente:

a. Reino. Plantae

b. Filo. Magnoliophyta

c. Clase. Magnoliopsida

d. Orden. Rubiales

e. Familia. Rubiaceae

f. Género. *Morinda*

g. Especie. *Citrifolia* (Quito y Torres, 2007).

2.1.4.2 Composición Química. La fruta está compuesta por 90% de agua y el 10 % restante son sólidos solubles, fibras dietéticas y proteínas. Su contenido proteico es alto y representa aproximadamente el porcentaje de 11.3% de la materia seca, tiene aminoácidos como el ácido aspártico, ácido glutámico e isoleucina. Su contenido mineral es el 8,4% de esta materia seca, siendo los más importantes potasio, azufre, calcio, fósforo y selenio en el jugo. También se han encontrados monosacáridos, como arabinosa, galactosa, ácido galacturónico y ramnosa. Las vitaminas encontradas en la fruta son principalmente ácido ascórbico y provitamina A. Hasta ahora, se han descrito varias clases de metabolitos en diferentes partes, como ácidos, alcoholes y fenoles, antraquinona, glucósidos de antraquinona, carotenoides, ésteres, flavonoides, iridoides, cetonas, lactonas, lignanos, nucleósidos, triterpenoides, esteroides y varios compuestos menores (Singh, 2012).

Se han ubicado varios compuestos principales en la planta de Noni, como escopoletina, ácido octanoico, potasio, vitamina C, terpenoides, alcaloides, antraquinonas (nordamnacanthal, morindone, rubiadín, y rubiadín-1-methyl éter, glicósido de antraquinona), b-sitosterol, caroteno, vitamina A, glucósidos de flavona, ácido linoleico, alizarina, aminoácidos, acubina, L- Asperulosida, ácido caproico, ácido caprílico, ácido ursólico, rutina y una proxeronina putativa (Ramesh et al., 2012).

Hasta ahora se han identificado 51 compuestos volátiles en la fruta madura entre ellos ácidos orgánicos como ácido octanoico y hexanoico. El jugo liofilizado de la fruta Tahitiana contiene algunos elementos como manganeso, cobre, molibdeno y cobalto, mientras que en la fruta de la India se ha encontrado ácido ascórbico y provitamina A. Solo *Morinda citrifolia* de Brasil ha mostrado la presencia de azúcares reducidos, principalmente glucosa, fructosa y sucrosa y el extracto acuoso de sus hojas presento alcaloides, flavonoides, taninos y esteroides (Abou et al., 2017).

2.1.5 *Morinda citrifolia* (Noni) en el Perú

El noni es una especie botánica que crece en lugares tropicales y actualmente está siendo cultivada en el departamento de Ucayali, así como en el Alto Huallaga, en donde se ha venido promoviendo debido a sus bondades terapéuticas (Sullón, 2006).

El noni se ha adaptado de muy buena manera a las condiciones climáticas de Pucallpa, en donde se ha venido extendiendo cada vez más los terrenos de cultivo debido a su ascendente demanda (Sangama, 2007).

Según Palacios (2004), el noni fue sembrado por primera vez en Ucayali en 1999, por una familia proveniente de Japón; para posteriormente comenzar a extenderse en los departamentos de San Martín, Amazonas y Madre de Dios, debido a que se adaptó muy bien a los suelos de la Amazonía.

2.1.6 *Propiedades Terapéuticas*

2.1.6.1 Actividad Antifúngica. El extracto de *Morinda Citrifolia* presenta un efecto antifúngico sobre *Cándida albicans* que tiene variaciones de acuerdo a la concentración y al tiempo. Los estudios han demostrado que la *Morinda Citrifolia* tiene componentes que interfieren con el cambio morfológico de *Cándida albicans* de levadura a hifa, es decir que tiene potencial contra la candidiasis (Jayaraman et al., 2008).

2.1.6.2 Actividad Antiviral. Un equipo del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos identificó al damnacantal como un inhibidor de la proteína viral R (uno de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1) (Li et al., 2003).

2.1.6.3 Actividad Antiinflamatoria. Debido a que reduciría el dolor e inflamación en heridas, aplicándose de manera tópica sobre la parte afectada (Torres y Toranzo, 2009).

2.1.6.4 Actividad Antibacteriana. Las actividades antimicrobianas de la hoja contra *Salmonella*, *Enterica serovar typhi* (S76), *Staphylococcus aureus* (B313) y *Myco. phlei* CSL, se atribuyeron a los compuestos fenólicos como acubina, 1 asperulósido, alizarina y

escopoletina. Por otro lado, un estudio in vitro informó a *M. citrifolia* como antiséptico oral a través de la inoculación dental con *Enterococcus faecalis*. (Murray et al., 2008).

2.1.6.5 Actividad Anticancerígena. Los componentes naturales de *M. citrifolia* se informan principalmente como una cura natural contra el cáncer. El damnacantal inhibe la formación de tumores (Hiramatsu et al., 1993), mediante el aumento de la apoptosis en líneas celulares de cáncer colorrectal humano (Nualsanit et al., 2012).

2.1.7 Uso de *Morinda citrifolia* (Noni) en Odontología

2.1.7.1 Analgésico. Cornejo et al. (2014), midió el efecto analgésico post exodoncia simple de extracto de *Morinda citrifolia* a en 58 pacientes, dando a conocer que al ser tomada presentaría efecto analgésico posterior a una exodoncia simple a las dos horas.

2.1.7.2 Irrigante Endodóntico. Según Murray et al. (2008) se puede usar una concentración del 6% de este jugo para erradicar las bacterias anaerobias presentes en el conducto radicular, especialmente *E. Faecalis*. Es tan efectivo al igual que la clorhexidina y el hipoclorito de sodio.

2.1.7.3 Tratamiento contra Periodontitis, Gingivitis y Halitosis. Consumir jugo de noni dos veces al día, disminuye la inflamación gingival y previene una enfermedad periodontal (Oliva, 2019).

2.1.7.4 Tratamiento de la Úlcera Aftosa. La forma de polvo se puede utilizar para aplicar sobre las úlceras. Sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes ayudarían a reducir los síntomas (Oliva, 2019).

III. Método

3.1 Tipo de Investigación

Experimental in vitro, analítico, prospectivo y transversal.

3.2 Ámbito Temporal y Espacial

3.2.1 Ámbito Temporal

El tiempo en que se realizó este trabajo de investigación fue entre los meses de junio a diciembre del 2021.

3.2.2 Ámbito Espacial

Se desarrolló en el laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC) y el Instituto de Investigación Nutricional (INN)

3.3 Variables

3.3.1 Variable Dependiente.

Efecto antifúngico sobre *Candida albicans*.

3.3.2 Variable Independiente.

Extracto metanólico de *Morinda citrifolia* “noni”.

3.4 Población y Muestra

3.4.1 Población

Cepas de *Candida albicans* (ATCC ® 10231).

3.4.2 Muestra

La muestra fue de 40 pocillos con los extractos (semilla, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia*) y controles a comparar.

3.5 Instrumentos

La ficha de registro utilizada (Anexo 1) fue llenado con los datos recolectados por el investigador. Tuvo las siguientes características: recolectar y registrar todos los datos obtenidos sobre la medida individual de los halos inhibitorios alrededor de cada pocillo donde se depositó el extracto metanólico de *Morinda citrifolia*, dicha medida se realizó en milímetros utilizando un vernier digital calibrado (Vogel, Alemania) ®, a las 24 horas de haber realizado la siembra se procedió a hacer las lecturas y el llenado de la ficha de recolección, tomando en cuenta la:

- Identificación de la muestra.
- Medida en milímetros del halo de inhibición formado.

3.6 Procedimientos

3.6.1 Recolección y Elaboración del Extracto Metanólico

Se recolectó 1 kg de *Morinda citrifolia* proveniente de Lima - Perú. Posteriormente, la muestra de 1 Kg de la planta fue remitida al herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional mayor de San Marcos para su reconocimiento taxonómico y la muestra fue identificada como *Morinda citrifolia* (60-USM-2020). Posteriormente, se seleccionaron los frutos, retirando otros elementos biológicos de la planta, luego fueron meticulosamente separados en semillas (262 g), cáscara (153 g) y pulpa (180 g), luego a cada uno de estos se le aplicó el método de maceración en metanol, del cual se extrajo 24.5 ml para las semillas, 18.5 ml para la cáscara y 28.0 ml para la pulpa, después de evaporar el solvente, obteniéndose concentraciones finales de 10690 mg/ml, 8270 mg/ml y 6430 mg/ml, para la semilla, cáscara y pulpa; respectivamente. Seguidamente, para evaluar la CMI y la CMF del extracto metanólico de *Morinda citrifolia* se realizaron diluciones seriadas de factor 2, desde 1:2 hasta 1:128.

3.6.2. Procedimiento para Evaluar Sensibilidad Antifúngica

El hongo fue cultivado en agar *Dextrosa Sabouraud* en condiciones de anaerobiosis controlada, a 37°C durante 72 horas. Luego del tiempo de cultivo se procedió a aislar de 7 a 8 colonias, las cuales fueron inoculadas en 3ml de caldo de cultivo *BHI* (Brain Heart Infusion), luego se colocó en la jarra de anaerobiosis (bbl GasPak®) durante 72 horas a 37 °C en la incubadora Memmert®, junto con Anaerocult C®. Posteriormente, para la prueba de inhibición del crecimiento se utilizó la metodología de difusión en pocillo (perforación en agar). Para ello, se preparó el agar *Dextrosa Sabouraud*, el cual fue autoclavado a 121°C durante 15 minutos. Acto seguido, se dejó enfriar el agar hasta alcanzar una temperatura aproximada de 55°C y se vertió en placas Petri de 94 x 16 mm. Las placas se dejaron enfriar y solidificar por dos horas aproximadamente; luego se inoculó la suspensión fúngica de forma homogénea. Todo el procedimiento fue realizado bajo una campana de bioseguridad tipo II para evitar contaminaciones. Luego con un sacabocados, se hicieron 5 perforaciones de 8 mm de diámetro en el agar. Seguidamente, en cada pocillo se agregó un volumen de 150 ul de extracto metanólico de *Morinda citrifolia* proveniente de la semilla (10690 mg/ml), cáscara (8270 mg/ml) y pulpa (6430 mg/ml). Como control positivo se usó Clorhexidina al 0.12% y como control negativo se usó agua destilada. Las placas fueron incubadas en anaerobiosis controlada a 37°C durante 24 h. Transcurrido el tiempo de incubación, se midieron los diámetros de los halos de inhibición en milímetros (mm) con la ayuda de un vernier digital calibrado (Vogel, Alemania) y se anotó en hoja de cálculo de Microsoft® Excel 2019.

Finalmente, se utilizó la escala de Duraffourd et al., (1986) (Guevara et al., 2020) para evaluar la sensibilidad antifúngica hacia el extracto metanólico de la semilla, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia*, según sus halos de inhibición y se comparó con la clorhexidina al 0.12% (control). (**Cuadro 1**).

Cuadro 1

Escala de Duraffourd para determinar la sensibilidad antifúngica, de acuerdo al diámetro de los halos de inhibición

Escala de Duraffourd		
Clasificación	Símbolo	Diámetro (mm)
Nula	•	< 8
Sensible	+	8 - 14
Muy sensible	++	14 - 20
Sumamente sensible	+++	> 20

Nota. mm: milímetros

El tamaño de muestra estuvo constituido por 8 réplicas ($n = 8$) y se calculó a partir de un estudio piloto por la fórmula de comparación de medias, considerando un $\alpha = 0.05$ y un poder estadístico de $1 - \beta = 0.80$ con varianzas $S12 = 0.56$ y $S22 = 0.81$ y una diferencia de medias de 1.2 mm. Además, las unidades de estudio se seleccionaron por muestreo aleatorio simple sin reposición. Los grupos se conformaron de la siguiente manera:

- 8 réplicas con extracto metanólico de la semilla de *Morinda citrifolia* (stock: 10690 mg/ml).
- 8 réplicas con extracto metanólico de la cáscara de *Morinda citrifolia* (stock: 8270 mg/ml).
- 8 réplicas con extracto metanólico de la pulpa de *Morinda citrifolia* (stock: 6430mg/ml).
- 8 réplicas con Clorhexidina 0.12 % [Control (+)].
- 8 réplicas con agua destilada [Control (-)].

3.6.3 *Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida (CMF).*

Se utilizaron cepas de *Candida albicans* (ATCC ® 10231) cultivadas en el laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC). La CMF es considerada como la concentración más baja en que se inhibe el crecimiento del hongo en el medio utilizado. Mientras que la CMI es la concentración mínima del extracto donde no hubo crecimiento visible después del periodo de incubación (Parvekar et al., 2020).

Se prepararon placas de agar dextrosa *Sabouraud* con 48 a 72 horas de anticipación. En tubos microcentrífuga de 1.5 ml estériles, se agregó 100 ul del extracto por cada dilución. Se midió la absorbancia mediante un espectrofotómetro DR 6000 UV-VIS® con un haz luminoso a una distancia de 1 cm. La absorbancia a 600 nm dio un valor entre 0.08 y 0.10, luego se procedió con la preparación de la suspensión del inóculo de tal manera que se ajustara a 1.5×10^8 UFC/ml, de acuerdo con la turbidez estándar de 0.5 de McFarland bbl®.

A cada tubo microcentrífuga se le agregó un volumen de 5 ul de *Candida albicans*, se homogenizó mediante vórtice (Thermolyne®) y se midió la absorbancia de la turbidez de la solución stock y sus disoluciones con el espectrofotómetro. Acto seguido, los tubos fueron incubados a 37°C por 24 horas en condiciones anaeróbicas, pasado este tiempo se volvió a medir la absorbancia y se comparó con el primer resultado para determinar el CMI. Posteriormente, 100 ul del extracto fue inoculado y diseminado en las placas de agar *Dextrosa Sabouraud* mediante asas estériles. Las placas fueron incubadas a 37°C por 24 horas en condiciones anaeróbicas y se realizó la inspección visual para evidenciar crecimiento de colonias. De acuerdo a estos resultados se determinó la CMF (Parvekar et al., 2020).

3.7 Análisis de datos

Los datos fueron recolectados en una ficha ad hoc e ingresados a una hoja de cálculo de Microsoft Excel 2019®, posteriormente fueron exportados y procesado con el paquete estadístico SPSS® (Statistical Package for the Social Sciences) versión 24. Para el análisis descriptivo se utilizó medidas de tendencia central y dispersión, como la media y la desviación estándar. Se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y la prueba de homocedasticidad de Levene, cuyos resultados demostraron que los datos reunían los requisitos para aplicar pruebas paramétricas. Por ello, se comparó los halos de inhibición con el Test de ANOVA con un ajuste post hoc de Tukey, además se consideró un nivel de significancia al 95 % y un error tipo I.

IV. Resultados

Se elaboraron extractos metanólicos de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* (noni) para evaluar su actividad antifúngica sobre cepas de *C. albicans* y comparar su efecto con la Clorhexidina 0.12%, mediante el método de difusión en pocillo. A su vez se realizaron diluciones dobles seriadas de los extractos para hallar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y mínimas fungicidas (CMF), a través del método de macrodilución en caldo y dilución en agar, respectivamente. Obteniéndose los siguientes resultados.

Tabla 1

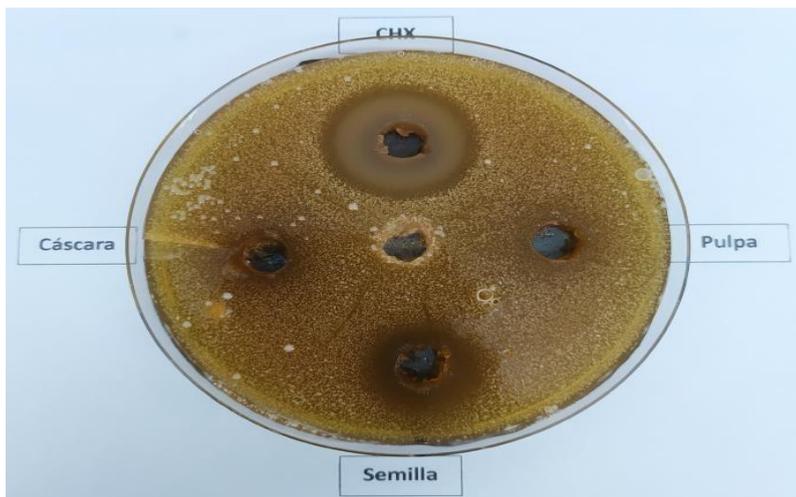
Valores descriptivos de los halos de inhibición (mm), según la actividad antifúngica de la solución stock del extracto metanólico de Morinda citrifolia, según las partes del fruto

Solución	n	Media (mm)	DS	EE	95% IC		Mín	Máx	Sensibilidad*
					LI	LS			
Stock cáscara	8	11.94	0.73	0.26	11.33	12.55	11.00	13.00	+
Stock semilla	8	15.94	0.78	0.27	15.29	16.59	15.00	17.00	++
Stock pulpa	8	11.56	0.90	0.32	10.81	12.32	10.00	13.00	+
CHX 0.12%	8	22.13	1.25	0.44	21.08	23.17	20.00	24.00	+++
Total	32	15.39	4.41	0.78	13.80	16.98	10.00	24.00	

n: réplicas (tamaño de muestra); DS: Desviación Estándar; EE: Error Estándar de la media; 95% IC: Intervalo de confianza al 95%; LI: Límite Inferior; LS: Limite Superior. *Basado en la escala de Duraffourd: sensible (+), muy sensible (+ +) y sumamente sensible (+ + +). CHX 0.12%: Clorhexidina al 0.12%.

Figura 1

Halos de inhibición de la solución Stock del extracto metanólico de Morinda citrifolia según las partes del fruto



CHX: Diguconato de clorhexidina al 0.12% (control positivo). El pocillo del centro corresponde a agua destilada (control negativo).

Nota. La *Candida albicans* presentó sensibilidad frente a las soluciones stock del extracto metanólico de *Morinda citrifolia*, tanto para la pulpa (6430 mg/ml), semilla (10690 mg/ml) y cáscara (8270 mg/ml). Siendo la actividad antifúngica, según la escala de Duraffourd, sensible para la pulpa y la cáscara, y muy sensible para la semilla (**Tabla 1**).

El extracto metanólico de la pulpa de *Morinda citrifolia* presentó menor actividad antifúngica con un promedio de halos de inhibición de 11.56 mm (IC 95%: 10.81 – 12.32) frente a la *Candida albicans*, mientras que el extracto metanólico de las semillas de *Morinda citrifolia* presentó mayor actividad antifúngica con un promedio de halos de inhibición de 15.94 mm (IC 95%: 15.29 – 16.59) frente a la *Candida albicans*. Sin embargo, el promedio más alto de actividad antifúngica lo obtuvo la clorhexidina al 0.12% (control) con 22.13 mm (IC: 21.08 – 23.17). (**Tabla 1 y Figura 1**).

Tabla 2

Comparación de los halos de inhibición según la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de Morinda citrifolia, según sus partes del fruto

Solución	Media (mm)	DS	EE	F	p-valor
Stock cáscara	11.94	0.73	0.26		
Stock semilla	15.94	0.78	0.27	219.85	<0.001*
Stock pulpa	11.56	0.90	0.32		
CHX 0.12%	22.13	1.25	0.44		

DS: Desviación Estándar; EE: Error Estándar de la media; F: Estadístico de la prueba de ANOVA de un factor intersujetos; *p-valor <0.05 (Diferencia significativa).

Nota. Al comparar la solución stock del extracto metanólico de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* con la clorhexidina al 0.12% (control), se pudo observar que hubo diferencias significativas en la actividad antifúngica (p<0.001) (**Tabla 2**).

Tabla 3

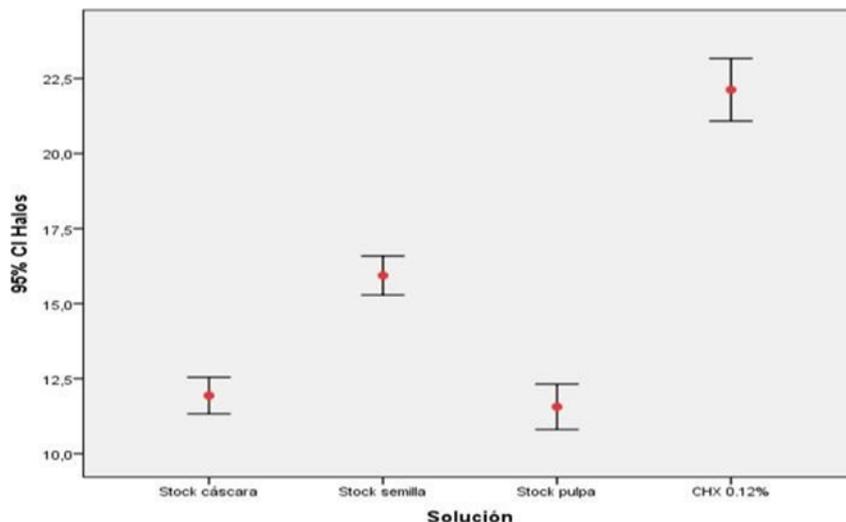
Comparación múltiple de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de Morinda citrifolia según, sus partes del fruto

Solución	Stock semilla	Stock pulpa	CHX 0.12%
Stock cáscara	p<0.001*	p=0.853	p<0.001*
Stock semilla		p<0.001*	p<0.001*
Stock pulpa	p<0.001*		p<0.001*

*Diferencias significativas (p<0.05) basadas en la prueba post hoc de Tukey; CHX 0.12%: Digluconato de clorhexidina al 0.12%.

Figura 1

Comparación de medias al 95% de confianza de los halos de inhibición, según las partes del fruto de *Morinda citrifolia*.



Nota. Al hacer las comparaciones por pares, se pudo apreciar que el extracto metanólico de las semillas de *Morinda citrifolia* presentó significativamente mayor actividad antifúngica que la cáscara ($p < 0.001$) y la pulpa ($p < 0.001$), respectivamente. Sin embargo, la semilla no pudo igualar la eficacia de la clorhexidina al 0.12%, ya que éste presentó significativamente mayor efectividad antifúngica respecto al extracto metanólico de todas las partes del fruto ($p < 0.001$). El extracto metanólico de la pulpa y la cáscara del fruto de *Morinda citrifolia* presentaron similar actividad antifúngica ($p = 0.853$). (**Tabla 3 y Figura 1**).

Tabla 4

Método cuantitativo del crecimiento de Candida albicans cultivado en disoluciones seriadas del extracto metanólico de las semillas de Morinda citrifolia

Crecimiento	Stock 10690 mg/m l	5345 mg/m l	2672. 5 mg/m l	1366.2 5 mg/ml	668.1 3 mg/m l	334.0 6 mg/m l	167.0 3 mg/m l	83.52 mg/m l	C P	C N
En tubo	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
En placa	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-

CP: control positivo (agar *Dextrosa Sabouraud* inoculado con *Candida albicans* sin extracto metanólico de *Morinda citrifolia*), CN: control negativo (agar *Dextrosa Sabouraud* con extracto metanólico de *Morinda citrifolia* sin inocular). Con crecimiento (+), sin crecimiento (-).

Figura 2

Inhibición del crecimiento de Candida albicans hasta la tercera dilución (D3: 1366.25 mg/ml) del extracto metanólico de la semilla de Morinda citrifolia.



Nota. Respecto al extracto metanólico de las semillas de *Morinda citrifolia*, se pudo observar que la CMI frente a la *Candida albicans* a las 24 horas fue la tercera dilución (1366.25 mg/ml), según la absorbancia de acuerdo a la turbidez en el tubo. Además, al visualizar el crecimiento de colonias en placa se pudo observar que la CMF fue la segunda dilución

(2672.50 mg/ml) (Tabla 4 y Figura 2).

Tabla 5

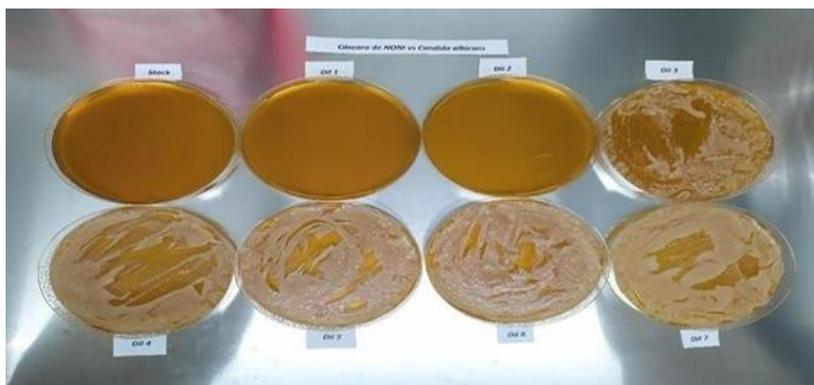
Método cuantitativo del crecimiento de Candida albicans cultivado en disoluciones seriadas de extracto metanólico de la cáscara de Morinda citrifolia

Crecimiento	Stock 8270 mg/m l	4135 mg/m l	2067. 5 mg/ml	1033.7 5 mg/ml	516.8 8 mg/ml	258.4 3 mg/ml	129.2 2 mg/ml	64.61 mg/m l	CP	C N
En tubo	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
En placa	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-

CP: control positivo (agar *Dextrosa Sabouraud* inoculado con *Candida albicans* sin extracto metanólico de *Morinda citrifolia*), CN: control negativo (agar *Dextrosa Sabouraud* con extracto metanólico de *Morinda citrifolia* sin inocular). Con crecimiento (+), sin crecimiento (-).

Figura 3

Inhibición del crecimiento de Candida albicans hasta la segunda dilución (D2: 2067.5 mg/ml) del extracto metanólico de la cáscara de Morinda citrifolia.



Nota. Respecto al extracto metanólico de la cáscara de *Morinda citrifolia*, se pudo observar que la CMI frente a la *Candida albicans* a las 24 horas fue la segunda dilución (2067.5

mg/ml), de acuerdo a la absorbancia de la turbidez en el tubo. Además, al visualizar el crecimiento de colonias en placa se pudo observar que esta dilución también fue la CMF (Tabla 5 y Figura3).

Tabla 6

Método cuantitativo del crecimiento de C. albicans en diluciones seriadas de extracto metanólico de la pulpa de Morinda citrifolia

Crecimiento	Stock 6430 mg/ml	3215 mg/ml	1607.5 mg/ml	803.75 mg/ml	401.88 mg/ml	200.94 mg/ml	100.47 mg/ml	50.23 mg/ml	C P	C N
En tubo	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
En placa	-	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	-
									+	

CP: control positivo (agar *Dextrosa Sabouraud* inoculado con *Candida albicans* sin extracto metanólico de *Morinda citrifolia*), CN: control negativo (agar *Dextrosa Sabouraud* con extracto metanólico de *Morinda citrifolia* sin inocular). Con crecimiento (+), sin crecimiento (-).

Figura 4

Inhibición del crecimiento de Candida albicans hasta la segunda dilución (D2: 1607.5 mg/ml) del extracto metanólico de la pulpa de Morinda citrifolia.



Nota. Respecto al extracto metanólico de la pulpa de *Morinda citrifolia*, se pudo observar que la CMI frente a la *Candida albicans* a las 24 horas fue la segunda dilución (1607.5 mg/ml), según la absorbancia de acuerdo a la turbidez en el tubo. Además, al visualizar el crecimiento de colonias en placa se pudo observar que la CMF fue la primera dilución (3215 mg/ml) **(Tabla 6 y Figura 4).**

V. Discusión de Resultados

La medicina natural utilizada como tratamiento alternativo y/o complementario para contrarrestar enfermedades es de gran importancia en materia de salud pública. A razón de ello, el propósito de este estudio fue evaluar la actividad antifúngica in vitro del extracto metanólico de cáscara, pulpa y semilla de *Morinda citrifolia* frente a las cepas de *Candida albicans*.

En la presente investigación, los resultados demostraron que el extracto metanólico de la semilla (10690 mg/ml), pulpa (6430 mg/ml) y cáscara (8270 mg/ml) de *Morinda citrifolia* tuvieron actividad antifúngica, observándose el máximo efecto en el extracto metanólico de la semilla. Además, se determinó la CMI del extracto de semilla (1366,25 mg/ml), cáscara (2067.5 mg/ml) y pulpa (1607.5 mg/ml.), y la CMF con valores de 2672.5 mg/ml, 2067.5 mg/ml y 3215 mg/ml, respectivamente.

Es probable que el mayor efecto antifúngico del extracto metanólico de la semilla de *Morinda citrifolia*, se deba a la mayor concentración de cumarinas, flavonoides, y/o quinonas en esta parte del fruto (Castillo et al., 2014); ya que estos compuestos pueden actuar en el hongo como potentes inhibidores de la cadena de transporte electrónico, desacopladores de la fosforilación oxidativa, agentes intercaladores de la doble del ADN, agentes de alquilación reductiva de biomoléculas, y como productores de radicales libres (Duran et al., 2013; Rodriguez, 2007). Además, los flavonoides presentes en la *Morinda citrifolia* en forma de glicósidos le otorga una alta solubilidad en agua y en disolventes polares, por ello al estar disuelto en metanol, esto podría incrementar su acción farmacológica como agente antimicrobiano (Aboody y Mickymaray, 2020).

Otros componentes de *Morinda citrifolia* a los que se les atribuiría su acción antifúngica, son los iridoides, en especial a dos, el ácido asperulosídico y el ácido desacetilasperulosídico, ya que estos se encuentran en el fruto en una mayor concentración, pudiendo variar de acuerdo a la zona geográfica donde crece (West et al., 2012; Deng et al., 2010). Además, otros reportes mencionan que el contenido de iridoides sería mucho más alto que el contenido de flavonoides y cumarinas en la *Morinda citrifolia* (Deng et al., 2007; Deng et al., 2009; Deng et al., 2010). Si bien la actividad farmacológica de los iridoides no está del todo esclarecida, existe evidencia consistente que lo presenta como un componente esencial de esta planta (West et al., 2012; Deng et al., 2010; Deng et al., 2007; Deng et al., 2009; Deng et al., 2010).

Existen un compuesto encontrado exclusivamente en el fruto de *Morinda citrifolia*, como el eugenol (Agustina et al., 2021), que ha demostrado tener propiedades antifúngicas comprobadas frente a *Candida albicans*, reduciendo significativamente el número de unidades formadoras de colonias (UFC) e histológicamente puede disminuir las zonas focalizadas ocupadas por hifas (Chami et al., 2004). Otro compuesto encontrado en el fruto de la *Morinda citrifolia* es la escopoletina (Prasad et al., 2019), que es una cumarina que ha demostrado tener propiedades antifúngicas frente al hongo de género *Candida*, inhibiendo la tasa de crecimiento de las biopelículas preformadas hasta en un 68.2% y disminuyendo significativamente la extensión de las biopelículas que crecen en la superficie de los cubreobjetos, evitando la formación de hifas. Siendo su mecanismo de acción relacionada con la lisis de la pared celular, afectando además a los esteroides de la membrana plasmática (Lemos et al., 2020).

En esta investigación, el extracto metanólico de las semillas de *Morinda citrifolia* a una concentración de 10690 mg/ml, presentó mayor actividad antimicrobiana comparada con otras partes del fruto frente a *Candida albicans* a las 24 horas con un halo inhibitorio de 15.94

mm, siendo esto muy sensible según la escala de Duraffourd et al., (1986). Estos resultados difieren de lo reportado por Castillo et al. (2014), ya que las semillas de *Morinda citrifolia* en extracto seco formaron halos de inhibición de 12 mm; y con el hexano, cloroformo y acetato de etilo formaron halos de inhibición que oscilaron entre los 8 y 12 mm. Estas diferencias podrían deberse a que Castillo et al. (2014) usaron como disolventes hexano, cloroformo y acetato de etilo; mientras que en este estudio se usó como disolvente el metanol, que según lo que reporta un estudio realizado por Muenmuang et al. (2017), el extracto metanólico proporciona el mayor rendimiento de extracción del fruto de *Morinda citrifolia*.

El extracto de la pulpa de *Morinda citrifolia* a una concentración de 6430 mg/ml presentó la menor actividad antifúngica con un promedio de halos de inhibición de 11.56 mm. Estos resultados son similares a lo obtenido por Jayaraman et al. (2008). Sin embargo, estos resultados discrepan con lo reportado por Barani et al, (2014), quienes emplearon el método de difusión en disco, y a diferencia de del presente estudio, ellos utilizaron el extracto liofilizado del jugo de la fruta a una concentración de 1 mg/ml inhibiendo eficazmente el crecimiento de *Candida albicans*, dando halos de inhibición de 16.6 ± 0.3 mm, observándose además que el patrón de inhibición aumentaba a medida que la concentración del extracto aumentaba.

En este estudio, la *Candida albicans* demostró poca sensibilidad al extracto metanólico de la pulpa de *Morinda citrifolia* a pesar de haberse aplicado la máxima concentración (6430 mg/ml) durante 24 horas, siendo esto concordante con lo obtenido por Jayaraman et al. (2008). Sin embargo, esto difiere de lo reportado por West et al. (2012), ya que ellos aislaron los iridoides de la pulpa de *Morinda citrifolia* y obtuvieron que todo el crecimiento de *Candida albicans* se detuvo a una concentración de iridoides 0.8 mg/ml. Además, en la presente investigación se obtuvo que la CMI del extracto metanólico de pulpa de *Morinda citrifolia* fue 1607.5 mg/ml a un período de incubación de 24 horas, siendo esto

discrepante con lo reportado por Jainkittivong et al. (2009), quienes utilizaron el extracto liofilizado del jugo de la pulpa y observaron que con la concentración de 50 mg/ml no se detectó crecimiento de *Candida albicans* en un tiempo de incubación de 30 minutos y a 60 mg/ml no se detectó crecimiento en un tiempo de 15 minutos. Probablemente estas diferencias se deban a que Jainkittivong et al. (2009), obtuvieron sus extractos mediante el proceso de liofilización, lo que permitió una mayor conservación de sus componentes volátiles o termosensibles, mezclando la congelación y deshidratación (Bjelošević et al., 2020; Gonçalves, 2018).

La mayoría de investigaciones coinciden en que el efecto antifúngico del extracto de *Morinda citrifolia* tendría dependencia positiva respecto a la concentración de la misma, es decir a mayor concentración se lograría mejor efecto antifúngico (West et al., 2012; Barani et al., 2014; Jainkittivong, 2009), siendo esto concordante con los hallazgos obtenidos en esta investigación, ya que la cáscara, semilla y pulpa demostraron su mejor actividad antifúngica frente a *Candida albicans*, cuando fueron utilizadas a su máxima concentración metanólica.

Actualmente, los productos naturales derivados de las plantas para el manejo y control de las enfermedades, han cobrado importancia por su efectividad a bajo costo (Cayo y Cervantes, 2020). Por ello, la importancia de esta investigación radica en que aporta información relevante sobre las propiedades antifúngicas de *Morinda citrifolia* frente a *Candida albicans*, ya que esta levadura demostró ser muy sensible al extracto metanólico de las semillas de *Morinda citrifolia*. Esto sienta las bases para realizar futuras investigaciones que puedan enriquecer más el conocimiento para la creación de un producto hecho a base de semilla de *Morinda citrifolia* que pueda ser usado en ensayos clínicos aleatorizados como colutorios o pastas tópicas, así como agente de limpieza para prótesis dentales con el fin de prevenir y combatir la candidiasis, ya que la *Morinda citrifolia* es un producto muy comercializado, popular, económico y no genera reacciones adversas.

Dentro de las limitaciones de esta investigación, no se encontraron estudios donde se evalúe la actividad antifúngica de la cáscara del fruto de la *Morinda citrifolia*, por lo que no se pudo comparar con los resultados obtenidos este estudio. Sin embargo, resulta poco relevante ya que la parte del fruto que presentó mejor actividad antifúngica frente a la *Candida albicans* fue la semilla.

VI. Conclusiones

- El extracto metanólico de las semillas, cáscara y pulpa de *Morinda citrifolia* presentó efecto antifúngico frente a *Candida albicans*.
- El extracto metanólico de las semillas presentó mayor actividad fungistática (muy sensible, según la escala de Duraffourd), seguido por el extracto metanólico de la cáscara y por último, por el extracto de la pulpa (sensibles, según la escala de Duraffourd).
- La clorhexidina al 0.12%, presentó significativamente mayor actividad antifúngica respecto al extracto metanólico de todas las partes del fruto.
- El extracto metanólico de la cáscara de *Morinda citrifolia* presentó la mayor CMI (2067.5 mg/ml), respecto al extracto metanólico de la pulpa (1607.50mg/ml); siendo el extracto metanólico de las semillas el que presento la menor CMI (1366.25 mg/ml).
- El extracto metanólico de la pulpa de *Morinda citrifolia* presentó la mayor CMF (3215 mg/ml), respecto al extracto metanólico de las semillas (2672.50 mg/ml); siendo el extracto metanólico de la cáscara el que presento la menor CMF (2067.5 mg/ml).

VII. Recomendaciones

- Se recomienda realizar estudios de efectividad antifúngica de los compuestos químicos más representativos de *Morinda citrifolia*, como los iridoides, el eugenol y la escopoletina frente a *Candida albicans*.
- Se recomienda realizar más estudios que evalúen el potencial antifúngico de otras partes de *Morinda citrifolia*, como la raíz, la flor, el tallo y la hoja.
- Se recomienda evaluar la combinación de *Morinda citrifolia* con antifúngicos sintéticos para verificar si existe sinergia significativa.
- Se recomienda darle continuidad a esta línea de investigación de *Morinda citrifolia* y evaluar su efecto antifúngico en biofilms proveniente de muestras clínicas.
- Se recomienda evaluar in vitro la concentración mínima de citotoxicidad del extracto metanólico de la cáscara, pulpa y la semilla de la *Morinda citrifolia* usando líneas celulares con el método de LC50.

VIII. Referencias

- Abou, R., Darwis, Y., Abdulbaqi, I. M., Khan, A., Vuanghao, L. y Laghari, M. H. (2017). Morinda citrifolia (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(5),691-707.<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.018>
- Aboody, M. y Mickymaray, S. (2020). Anti-Fungal Efficacy and Mechanisms of Flavonoids. *Antibiotics*, 9(2),45. DOI:10.3390/antibiotics9020045.
- Agustina, D., Wahyuningsih, M., Widyarti, S. y Rifa', I. M. (2021). Molecular docking study to reveal Morinda citrifolia fruits as a novel EGFR inhibitor for anticancer therapy. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*, 743, 012082. DOI: 10.1088/1755-1315/743/1/012082.
- Ali, M., Kenganora, M. y Manjula, S.N. (2016). Health Benefits of Morinda citrifolia (Noni): A Review. *Pharmacognosy Journal*, 8(4):321-334. doi:10.5530/pj.2016.4.4
- Avello, L. M. y Cisternas, F. I. (2010). Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Rev Med Chile*, 138, 1288-1293.
- Ayala Huamán, R., Pecho Ramirez, K. y Ácaro Chuquicaña, F. (2018). “Efecto antifúngico in vitro del extracto acuoso de Morinda citrifolia “noni” frente a *Cándida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*” [Tesis de Pregrado no publicada]. Universidad Interamericana para el Desarrollo.
- Barani, K., Manipal, S., Prabu, D., Ahmed, A., Adusumilli, P. y Jeevika, C.(2014).Antifungal activity of Morinda citrifolia (noni) extracts against *Candida albicans*: An in vitro study. *Indian J Dent Res*, 25(2), 188-90.
- Barbosa, A., Costa, I. y Zucolotto, S. (2017). Morinda citrifolia: facts and risks about the use of noni. *Revista Fitos*, 11(2), 119-249. doi: 10.5935/2446-4775.20170027.
- Baumgardner, D. (2019). Oral Fungal Microbiota: To Thrush and Beyond. *J. Patient-Cent. Res. Rev*;6(4); 252–261. doi: 10.17294/2330-0698.1705.

- Berman, J. (2012). *Candida albicans*. *Current Biology*, 22 (16), R620- R622.
doi:10.1016/j.cub.2012.05.043
- Bhattacharya, S., Sae-Tia, S. y Fries, B. (2020). Candidiasis and Mechanisms of Antifungal Resistance. *Antibiotics*, 9(6), 312. doi:10.3390/antibiotics9060312.
- Bjelošević, M., Zvonar, A., Planinšek, O. y Ahlin, P. (2020). Excipients in freeze-dried biopharmaceuticals: contributions toward formulation stability and lyophilisation cycle optimisation. *Int. J. Pharm.*, 576, 119029. doi:10.1016/j.ijpharm.2020.119029.
- Carrizo, S., Zampini, I., Sayago, J., Simirgiotis, M., Bórquez, J., Cuello, S. e Isla, M. (2020). Antifungal activity of phytotherapeutic preparation of *Baccharis* species from Argentine Puna against clinically relevant fungi. *J. Ethnopharmacol.*, 251, 112553. doi:10.1016/j.jep.2020.112553
- Castillo, A., Pascual, Y., CunhaNune, L., De la Paz, C. y Cañete F. (2014). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y semillas de *Morinda citrifolia* L. (noni). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1), 374-382.
- Castrillón, L., Palma, A. y Padilla, C. (2005). Factores de virulencia en *Candida* sp. *Dermatología Rev Mex*, 49 (1), 12-27. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/286816593_Virulence_factors_of_Candida_sp
- Cayo, C. y Cervantes, L. (2020). Antibacterial activity of *Camellia sinensis* versus propolis against *Streptococcus mutans*. *Rev Cubana Estomatol*, 57(1), e2967. Obtenido de: <http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/2967>
- Cayo, C., Santillán, K.R., Nicho, M., Ladera, M., Aliaga, A. y Cervantes, L. (2021). Knowledge about oral health, salivary PH, body mass index and its relationship with dental caries in preschool children. *Rev. Fac. Med.*, 69(4), e88709. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v69n4.88709>.

- Chami, N., Chami, F., Bennis, S., Trouillas, J. y Remmal, A. (2004). Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Braz J Infect Dis*, 8(3),217–26. doi: 10.1590/s1413-86702004000300005.
- Claus, E. y Tyler, V. (Ed.). (1968). *Farmacognosia*. El Ateneo S.A.
- Cornejo, F. M. P., Asmat, A. A. S. y Ruiz, R. S. G. (2014). Efecto analgésico posexodoncia simple del extracto de *Morinda citrifolia* (noni): ensayo clínico aleatorizado de grupos en paralelo. *Int. J. Odontostomat.*, 8(3),433-438.
- Da Silva Dantas, A., Lee, K. K., Raziunaite, I., Schaefer, K., Wagener, J., Yadav, B. y Gow, N. A. (2016). Cell biology of *Candida albicans* –host interactions. *Current Opinion in Microbiology*, 34, 111–118. doi:10.1016/j.mib.2016.08.006
- De la Calle, N., Santa, C. y Cardona, N. (2012) Factores de virulencia para la infección de tejidos queratinizados por *Candida albicans* y hongos dermatofitos. *Rev CES Med*, 26(1), 43-55. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-87052012000100005&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Delgado, K. R., Boone, A. T. S., Guerra, M. A., Cabello, D. G., Campos, J. G., Sánchez, L. M. S. y Padilla, C. R. (2013). Candidiasis mucocutánea crónica. *Dermatología Revista Mexicana*, 57(5), 378-381.
- Deng, S., West, B. J., Palu, 'Afa K. y Jensen, C. J. (2010). Determination and comparative analysis of major iridoids in different parts and cultivation sources of *Morinda citrifolia*. *Phytochemical Analysis*, 22(1), 26–30. doi:10.1002/pca.1246
- Deng, S., Palu, A.K., West, B.J., Su, C.X., Zhou, B.N. y Jensen, J.C. (2007). Lipoxygenase inhibitory constituents of the fruits of noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. *J Nat Prod*, 70, 859– 862.

- Deng, S., West, B.J., Jensen, J.C., Basar, S. y Westendorf, J. (2009). Development and validation of an RP-HPLC method for the analysis of anthraquinones in noni fruits and leaves. *Food Chem*, 116, 505– 508.
- Deng, S., West, B.J. y Jensen, J.C. (2010). A quantitative comparison of phytochemical components in global noni fruits and their commercial products. *Food Chem*, 122, 267– 270.
- Duraffourd, C. y Lapraz, J.C. (1986). *Clinical Phytotherapy Notebooks*. Editorial Masson.
- Duran, M., Gaitán, R. y Olivero, J.T. (2013). Búsqueda en bases de datos de actividad biológica de moléculas quinoides. *Revista Cubana de Información en Ciencias de la Salud*, 24(4), 416-430.
- García-Vidal, C. y Carratalà, J. (2012). Patogenia de la infección fúngica invasora. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 30(3), 151–158. doi:10.1016/j.eimc.2011.09.011
- Global Action Fund for Fungal Infections. (2019). *Fungal disease frequency*.
<https://www.gaffi.org>
- Gonçalves, O., Alves, M., Grácio, J. y Nunes, V. (2018). A comparative study of raspberry dehydration by lyophilisation or conventional drying. *Int. Adv. Res. Eng. J*, 02(03), 267-272, 2018. Obtenido de: <https://dergipark.org.tr/en/pub/iarej/issue/40961/422046>
- Guevara, L., Bonilla, P. y Caicedo, M. (2020). Antimicrobial activity of orthodontic adhesive with silver nanoparticles on *Streptococcus mutans*. *Revista Odontología*, 22(2), 33–44. doi:10.29166/odontologia.vol22.n2.2020-33-44.
- Gulati, M. y Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes Infect*, 18(5), 310-21.
- Hellstein, J.W. y Marek, C.L. (2019). Red and White Manifestations in the Oral Cavity. *Head Neck Pathol*, 13(1), 25-32. doi: 10.1007/s12105-019-01004-6

- Herrera Brito, E. (2017). *Efecto inhibitorio del extracto de noni y jengibre frente a Cándida albicans y Streptococcus mutans. Estudio in vitro* [Tesis de Pregrado, Universidad Central del Ecuador]. Repositorio Digital- Universidad Central del Ecuador.
- Hiramatsu, T., Imoto, M., Koyano, T. y Umezawa, K. (1993). Induction of normal phenotypes in ras-transformed cells by damnacanthol from *Morinda citrifolia*. *Cancer Letters*, 73(2-3), 161–166. doi:10.1016/0304-3835(93)90259-c
- Hong, Y. H., Yi, Y.-S., Han, S. Y., Aziz, N., Kim, H. G., Park, S. H., Hossain, M., Baik, K., Choi, S., Lee, J., Kim, J. y Cho, J. Y. (2019). *Morinda citrifolia* noni water extract enhances innate and adaptive immune responses in healthy mice, ex vivo, and in vitro. *Phytotherapy Research*, 1-14. doi:10.1002/ptr.6256
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2012). *DATABIO: Fichas de agentes biológicos*. <https://www.insst.es/databio-fichas-de-agentes-biologicos>
- Jacobsen, I., Wilson, D., Wachtler, B., Brunke, S., Naglik, J. y Hube, Bernhard. (2012). *Candida albicans* dimorphism as a therapeutic target. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 10(1), 85-93. doi: 10.1586/eri.11.152
- Jainkittivong, A., Butsarakamruha, T. y Langlais, R. P. (2009). Antifungal activity of *Morinda citrifolia* fruit extract against *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 108 (3), 394-398.
- Jayaraman, K. S., Manoharan, S.M. y Illanchezian, S. (2008). Antibacterial, Antifungal and Tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extracts. *International Journal of Integrative Biology*, 3 (1), 45. Obtenido de <https://www.researchgate.net/publication/234154145>
- Kuklinski, C. (Ed.). (2000). *Farmacognosia*. Omega S.A.
- Kumar, K. T., Panda, D. S., Nanda, U. N. y Khuntia, S. (2010). Evaluation of Antibacterial,

- Antifungal and Anthelmintic Activity of *Morinda citrifolia* L. (Noni). *International Journal of PharmTech Research*, 2 (2), 1030-1032.
- Lemos, A.S.O., Florêncio, J.R., Pinto, N.C.C., Campos, L.M., Silva, T.P., Grazul, R.M., Pinto, P.F., Tavares, G.D., Scio, E., Apolônio, A.C.M., Melo, R.C.N. y Fabri, R.L. (2020) Antifungal Activity of the Natural Coumarin Scopoletin Against Planktonic Cells and Biofilms From a Multidrug-Resistant *Candida tropicalis* Strain. *Front. Microbiol.* 11 (1525). doi: 10.3389/fmicb.2020.01525
- Li, R. W., Myers, S. P., Leach, D. N., Lin, G. D. y Leach, G. (2003). A cross-cultural study: anti-inflammatory activity of Australian and Chinese plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 85(1), 25–32. doi: 10.1016/s0378-8741(02)00336-7
- Lock de Ugaz, O. (2009). *Análisis Fitoquímico y Metabolitos Secundarios*. Pontificia Universidad Católica del Perú. <http://www.macaperuana.com/analisis.htm>
- Lohse, M.B, Gulati, M., Johnson, A.D. y Nobile, C.J. (2018). Development and regulation of single and multi- species *Candida albicans* biofilms. *Nat Rev Microbiolol*, 16(1), 19-31. doi: 10.1038/nrmicro.2017.107
- Matsubara, V.H., Bandara, H.M.H.N., Mayer, M.P.A. y Samaranayake, L.P. (2016). Probiotics as antifungals in mucosal candidiasis. *Clinical Infectious Diseases*, 62, (9), 1143–1153. doi: 10.1093/cid/ciw038
- Mayer, F.L., Wilson, D. y Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119-128. doi:10.4161/viru.22913.
- Millsop, J. W. y Fazel, N. (2016). Oral candidiasis. *Clinics in Dermatology*, 34(4), 487–494. doi:10.1016/j.clindermatol.2016.02.022
- Muenmuang, C., Narasingha, M., Phusantisampan, T. y Sriariyanun, M. (2017). Chemical Profiling of *Morinda Citrifolia* Extract From Solvent and Soxhlet Extraction Method. *Proceedings of the 6th International Conference on Bioinformatics and Biomedical*

Science - ICBBS '17. doi:10.1145/3121138.3121194

- Murray, P. E., Farber, R. M., Namerow, K. N., Kuttler, S. y Garcia-Godoy, F. (2008). Evaluation of *Morinda citrifolia* as an Endodontic Irrigant. *Journal of Endodontics*, 34(1), 66–70. doi:10.1016/j.joen.2007.09.016
- Nápoles, V., Darién, S., Kenia, M. y Colas, C. (2016). In vitro efficacy of *Morinda citrifolia* L for the Control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Rev. investig. vet. Perú*, 27(4),833. doi: 10.15381/rivep.v27i4.12562.
- Nasution, A.I. (2013). Virulence Factor and Pathogenicity of *Candida albicans* in Oral Candidiasis. *World J Dent*, 4(4), 267-271.
- Neville, B. W., Damm, D. D., Allen, C. M. y Chi, A. C. (2019). Viral Infections. *Color Atlas of Oral and Maxillofacial Diseases*, 141–168. doi:10.1016/b978-0-323-55225-7.00007-5
- Nualsanit, T., Rojanapanthu, P., Gritsanapan, W., Lee, S.-H., Lawson, D. y Baek, S. J. (2012). Damnacanthal, a noni component, exhibits antitumorigenic activity in human colorectal cancer cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(8), 915–923. doi:10.1016/j.jnutbio.2011.04.017
- Oliva Requejo, J. (2019). *Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de la fruta Morinda citrifolia “noni” frente Streptococcus mutans ATCC 35668* [Tesis de Pregrado no publicada]. Universidad Señor de Sipán.
- Organización mundial de la salud. (25 de marzo del 2020). Salud bucodental. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
- Palacios, M. (2004). *Poder Curativo y Nutricional del NONI. “La Fruta Milagrosa”*. Miguel Ángel.
- Pardi, G. y Cardozo, E. (2002). Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como

agente etiológico de Candidiasis bucal. *Acta odontologica venezolana*, 40 (1), 1-14.

Obtenido de:

http://www.actaodontologica.com/ediciones/2002/1/algunas_consideraciones_candida_albicans.asp

Parvekar, P., Palaskar, J., Metgud, S., Maria, R. y Dutta, S. (2020). The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of silver nanoparticles against *Staphylococcus aureus*. *Biomater. investig. dent*, 7(1): 105–109. doi:10.1080/26415275.2020.1796674.

Patil, S., Rao, R.S., Majumdar, B. y Anil, S. (2015). Clinical Appearance of Oral Candida Infection and Therapeutic Strategies. *Front. Microbiol*, 6. doi: 10.3389/fmicb.2015.01391

Paucar, E., Peltroche, N. y Cayo, C. (2021). Antibacterial and Antifungal Activity of the essential oil of *Minthostachys mollis* against oral microorganisms. *Rev. cuba. investig. bioméd.*, 40(5),1-19. Obtenido de: <http://www.revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/1450>

Paula, S., Sousa, J. y Brito, E. (2016). The morphological characterization of the dry seeds and reserve mobilization during germination in *Morinda citrifolia* L. *Rev. Ciênc. Agron*, 47(3):556–563. doi: 10.5935/1806-6690.20160067.

Pereira, C.A., Costa, A.C., Silva, M.P., Back-Brito, G.N. y Jorge, A.O. (2015). *Candida albicans* and virulence factors that increases its pathogenicity. En A. Méndez-Vilas (Ed.), *The Battle against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs* (pp. 631– 636). FORMATEX Research Center.

Pinel, B., Cassou-Mounat, T. y Bensadoun, R.-J. (2012). Candidose oropharyngée et

- radiothérapie. *Cancer/Radiothérapie*, 16(3), 222–229.
doi:10.1016/j.canrad.2011.11.004
- Prasad, P., Visagaperumal, Zonoubi, A. y Chandy, V. (2019). Review: Fruits of *Morinda citrifolia*. *Int. J. Pharm. Sci. Health*, 9(2), 9-20. doi : 10.26808/rs.ph.i9v2.02.
- Quito, R.L. y Torres, C.G. (2007). *Estudio de prefactibilidad técnico económico de una planta para elaborar una bebida a base de noni (Morinda citrifolia) y borojo (Borojoa Patinoi)* [Tesis de Pre grado, Escuela Politécnica Nacional]. Repositorio Digital- Escuela Politécnica Nacional.
- Ramesh, S., Radhakrishnan, M., Anburaj, R., Elangomathavan, R. y Patharajan, S. (2012). Physicochemical, phytochemical and antimicrobial studies on *Morinda citrifolia* L. fruits at different maturity stages. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4 (5), 473-476.
- Ramírez, J.S. (2006). Liofilización de alimentos. *ReCiTeIA*, 6(2),1-39.
- Revie, N., Iyer, K., Robbins, N. y Cowen L. (2018). Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. *Curr. Opin. Microbiol*, 45, 70–76.
doi:10.1016/j.mib.2018.02.005
- Rodríguez, E.G.R., Méndez, D., Martelo, J. y Zambrano, R. (2007). Análogos de quinonas naturales con actividad antibacteriana. *Scien Techn*, 13(33), 281-3.
- Ruiz, S., Venegas, E., Chávez, María. y Eustaquio, C. (2010). Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de *Morinda citrifolia* L. “noni” y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales. *UCV – Scientia*, 2(2), 11-22.
- Saminathan, M., Bahal, R., Dhama, K., Tiwari, R., Chakraborty, S., Amarpal, Jayaramaiah, R. y Kannan, K. (2013). Systematic Review on Anticancer Potential and other Health Beneficial Pharmacological Activities of Novel Medicinal Plant *Morinda citrifolia* (Noni). *Int. J. Pharmacol.*, 9(8), 462-492. doi: 10.3923/ijp.2013.462.492

- Sangama, E. (2007). *Efecto de cuatro densidades de siembra en el primer año de establecimiento del cultivo del noni (Morinda citrifolia Linn) en Pucallpa* [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Ucayali]. Repositorio Institucional-Universidad Nacional de Ucayali.
- Segal, E. y Frenkel, M. (2018). Review Experimental In Vivo Models of Candidiasis. *J Fungi*, 4 (21), 1-10. doi: 10.3390/jof4010021
- Serrano, J., López, R., Ramírez, L., Fernández, M., Sanz, M., Melchor, S., Peiteado, D. y Hernández, G. (2020). Risk factors related to oral candidiasis in patients with primary Sjögren's syndrome. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal*, 25(5), e700–e705. doi: 10.4317/medoral.23719.
- Sharma, Y., Venugopal, C.K., Hedge, R.V. y Mokashi, A.N. (2014). Noni: A new medicinal plant for the tropics. *African Journal of Plant Science*, 8(5), 243-247. doi: 10.5897/AJPS11.205
- Singh, A., Verma, R., Murari, A. y Agrawal, A. (2014). Oral candidiasis: An overview. *J Oral Maxillofac Pathol*, 18 (1), 81-5. doi: 10.4103/0973-029X.141325
- Singh, R. (2012). *Morinda citrifolia L. (Noni): A review of the scientific validation for its nutritional and therapeutic properties*. *Journal of Diabetes and Endocrinology*, 3(6), 77–91. doi:10.5897/jde10.006
- Sousa, S., Queiroz, A. y Figueirêdo, R. (2017). Rheological behavior of whole and concentrated noni pulps. *Braz. J. Food Technol*, 20, e2016067. Obtenido de: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20183108582#:~:text=http%3A//www.scielo.br/pdf/bjft/v20/198>
- Sullon Vargas, J. (2006). *Evaluación de la actividad antioxidante del noni (Morinda citrifolia L.) en tres estados de madurez en Tingo María* [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. Repositorio Institucional –Universidad Nacional

Agraria de la Selva.

- Suryana, K., Suharsono, H. y Antara, I. (2020). Factors associated with oral candidiasis in people living with HIV/AIDS: A case control study. *HIV/AIDS Res. Palliat. Care*, 12, 33–39. doi: 10.2147/HIV.S236304.
- Tao, L., Du, H., Guan, G., Dai, Y., Nobile, C.J., Liang, W., Cao, C., Zhang, Q., Zhong, J. y Huang, G. (2014). Discovery of a “White-Gray-Opaque” Tristable Phenotypic Switching System in *Candida albicans*: Roles of Non-genetic Diversity in Host Adaptation. *PLoS Biol*, 12(4), 1001830. doi:10.1371/journal.pbio.1001830
- Tapia Rengifo, D. I. (2011). *Candidiasis oral: Aspectos clínicos y diagnóstico* [Tesis de Pregrado no publicada]. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Torres, C., Santos, F., Guiguer, E., Araújo, A., Barbalho, S., Bueno, P., Silva, M., Alves, D., Lancellot, M. y Moreira H. (2018). Effect of *Morinda citrifolia* and *Annona muricata* on Ehrlich Tumor Cells in Swiss Albino Mice and In Vitro Fibroblast Cells. *J Med Food*, 22 (1), 46–51. doi:10.1089/jmf.2018.0061.
- Torres, V. y Castro, A. (2014). Fitoterapia. *Rev. Act. Clin. Med*, (42), 2185- 2189.
Obtenido de <http://www.revistasbolivianas.org.bo/cgi-bin/wxis.exe/iah/>
- Torres, M., De Fátima Braga Magalhães, I., Mondêgo-Oliveira, R., De Sá, J., Rocha, A. y Abreu-Silva, A. (2017). One Plant, Many Uses: A Review of the Pharmacological Applications of *Morinda citrifolia*. *Phytother Res*, 31(7), 971–979. doi:10.1002/ptr.5817
- Torres, A. y Toranzo, A. (2009). Antecedentes y estado actual de investigaciones sobre la utilidad medica de La *Morinda Citrifolia* (Noni Tahitiano). *Corr Med Cient Holg*,13(4).
- Trease, E. W. (1991). *Evans Farmacognosia*. (13a ed.).
- Tsui, C., Kong, E.F. y Jabra Rizk, M.A. (2016). Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm.

Pathogens and Disease, 74 (4), 018. doi:10.1093/femspd/ftw018

Vila, T., Sultan, A., Montelongo, D. y Jabra, M. (2020). Oral Candidiasis: A Disease of Opportunity. *J. Fungi*, 6(1), 15. doi:10.3390/jof6010015.

Usha, R., Sashidharan, S. y Palaniswamy, M. (2010). Antimicrobial Activity of a Rarely Known Species, *Morinda citrifolia* L. *Ethnobotanical Leaflets*, 14 (3), 306-11.

Wang, Z., Dou, R., Yang, R., Cai, K., Li, C. y Li, W. (2021). Changes in Phenols, Polysaccharides and Volatile Profiles of Noni (*Morinda citrifolia* L.) Juice during Fermentation. *Molecules*, 26(9), 2604. doi:10.3390/molecules26092604.

West, B., Palmer, S., Deng, S. y Palu, A. (2012). Antimicrobial Activity of an Iridoid Rich Extract from *Morinda citrifolia* Fruit. *Curr. Res. J. Biol. Sci.*, 4(1): 52-54.

IX. Anexos

Anexo A Ficha de Recolección de Datos

Extractos	EXTRACTO METANOLICO DE MORINDA CITRIFOLIA				
ESPECIE FUNGICA	Candida albicans				
MEDIO :	Agar Dextrosa Sabouraud (FORMACION DEL HALO DE INHIBICION)				
Concentraciones de Extracto	8270 mg/ml (cáscara)	10690 mg/ml (semilla)	6430 mg/ml (pulpa)	CONTROL POSITIVO (Clorhexidina 0.12%)	Agua destilada
Placa # 1 en (mm)					
Placa # 2					
Placa # 3					
Placa #4					
Placa #5					
Placa # 6					
Placa # 7					
Placa #8					

Anexo B Matriz de consistencia

Evaluación in vitro de la actividad antifúngica del extracto metanólico de *Morinda citrifolia* (Noni) sobre cultivos de *Candida albicans*

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÒTESIS	VARIABLES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICION	TECNICA Y MÈTODO	INSTRUMENTOS
¿Cuál es la actividad antifúngica del extracto metanólico de <i>Morinda citrifolia</i> “Noni” frente a <i>Candida albicans</i> ?	<p>Objetivo general:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar in vitro la actividad antifúngica del extracto metanólico de cascara, pulpa y semillas de <i>Morinda citrifolia</i> (Noni) sobre cepas de <i>Candida albicans</i>. <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la actividad fungistática del extracto metanólico de cascara, pulpa y semillas de la <i>Morinda citrifolia</i> (Noni) 	El extracto metanólico de la cascara, pulpa y semilla de <i>Morinda citrifolia</i> (Noni) presentaría actividad antifúngica de forma significativa sobre cepas de	<p>Variable independiente: Extracto metanólico de <i>Morinda citrifolia</i> “Noni”.</p> <p>Variable dependiente: Efecto antifúngico sobre <i>Candida albicans</i></p>	<p>Concentración del extracto.</p> <p>Diámetro de halo de inhibición.</p>	Nominal/ Politómica De razón	<p>Tipo de Estudio:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Prospectivo. - Transversal - Analítico <p>Diseño:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Experimental in vitro. <p>METODO</p> <ul style="list-style-type: none"> - Observación. 	<ul style="list-style-type: none"> - vernier digital calibrado (Vogel, Alemania) ®. - espectrofotómetro DR 6000 UV-VIS®

	<p>sobre cepas de <i>Candida albicans</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la actividad fungicida del extracto metanólico de cascara, pulpa y semillas de la <i>Morinda citrifolia</i> (Noni) sobre cepas de <i>Candida albicans</i>. • Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto metanólico de cascara, pulpa y semillas de la <i>Morinda citrifolia</i> (Noni) sobre cepas de <i>Candida albicans</i>. 	<i>Candida albicans</i> .				-Método estadístico.	
--	--	---------------------------	--	--	--	----------------------	--

Anexo C Clasificación taxonómica de *Morinda citrifolia*

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



"Año de la Universalización de la Salud"

CONSTANCIA N° 60-USM-2020

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

La muestra vegetal (Hojas y fruto) recibida de **SARA MERCEDES MEDRANO COLMENARES**; estudiante de la Universidad Nacional Federico Villarreal, ha sido estudiada y clasificada como: *Morinda citrifolia* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de APG IV (2016).

ORDEN: RUBIALES

FAMILIA: RUBIACEAE

GENERO: *Morinda*

ESPECIE: *Morinda citrifolia* L.

Nombre vulgar: "Noni"

Determinado por: Dra. Joaquina Albán Castillo

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 26 de febrero de 2020

Dra. Joaquina Albán Castillo
 JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/yr.

Anexo D Documento INNS



UPC
Universidad Peruana
de Ciencias Aplicadas

**Laboratorio de Biología Molecular
IIN – UPC**

Recepción de muestras

Fecha: 7 / 06 /2021

	SEDE O LOCAL	RESPONSABLE	
	Nombre	Nombres y Apellidos	Hora
ORIGEN			
DESTINO	Instituto de Investigación Nutricional (IIN)	Rosa More	10:14

Transportado por: _____

Total, de muestras	Tipo de muestra	Código de muestras
1kg	Noni	

Observaciones:

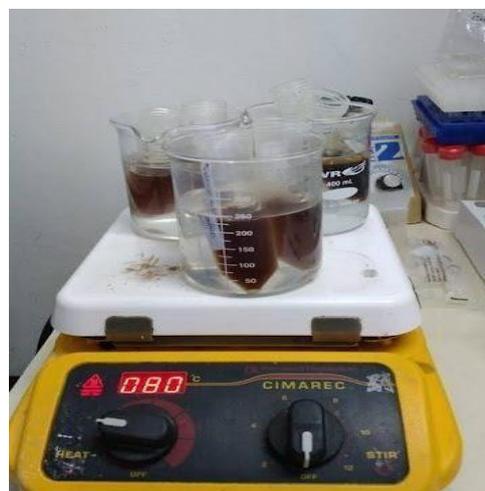
.....
.....

- *Estas muestras serán transportadas directamente al Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Investigación Nutricional para su posterior análisis.*

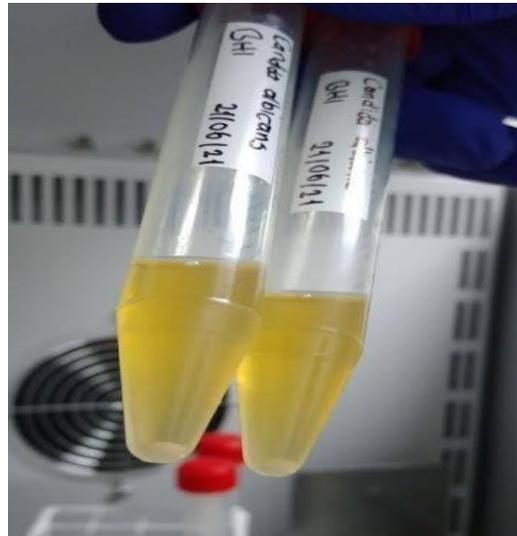
**Firma
Responsable**

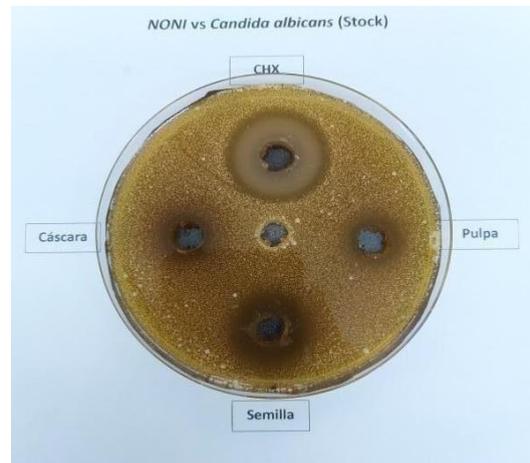


**Firma
Responsable IIN**

Anexo E Fotografías de la elaboración del extracto de *Morinda citrifolia* “Noni”

Anexo F Obtención y activación de la cepa de *Candida albicans*



Anexo G Resultados para la determinación de la actividad fungistática**Anexo H** Resultados para la determinación de la CMI y CMF