

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**  
**SEDE QUITO**

**CARRERA:**

**INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIERA EN  
BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**TEMA:**

**EVALUACIÓN ANTIMICÓTICA DE EXTRACTO DE MOSQUERA (*Croton  
elegans*.) FRENTE A: *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Trichophyton  
rubrum* ATCC 28188, *Microsporum canis* ATCC 36299, *Candida albicans* ATCC  
10231, PATÓGENOS DE DERMATOMICOSIS**

**AUTORA:**

**MYRIAN EVELYN GUAYASAMIN LÓPEZ**

**TUTORA:**

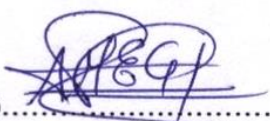
**TATIANA DE LOS ÁNGELES MOSQUERA TAYUPANTA**

**Quito, agosto del 2016**

## CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo Myrian Evelyn Guayasamin López, con documento de identificación N° 1722620570, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación intitulado: “EVALUACIÓN ANTIMICÓTICA DE EXTRACTO DE MOSQUERA (*Croton elegans*.) FRENTE A: *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, *Microsporum canis* ATCC 36299, *Candida albicans* ATCC 10231, PATÓGENOS DE DERMATOMICOSIS” mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

(f)  .....

Myrian Evelyn Guayasamin López

CI: 1722620570

Quito, julio 2016

## DECLARATORIA DE COAUTORÍA DE LA DOCENTE TUTORA

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el Proyecto de Titulación con el tema: “EVALUACIÓN ANTIMICÓTICA DE EXTRACTO DE MOSQUERA (*Croton elegans*.) FRENTE A: *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, *Microsporum canis* ATCC 36299, *Candida albicans* ATCC 10231, PATÓGENOS DE DERMATOMICOSIS” realizado por Myrian Evelyn Guayasamin López, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana, para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, julio 2016

(f).....  


Tatiana De Los Ángeles Mosquera Tayupanta

CI: 1711668010

## **Dedicatoria**

A mis padres, que han sido un apoyo imprescindible en todo momento y gracias a ellos he podido alcanzar mis metas propuestas.

## **Agradecimientos**

A la Ing. Tatiana Mosquera, que aparte de ser una excelente profesional y docente, ha sido un gran apoyo durante todo el proceso investigativo, y gracias a la oportunidad que me brindó al poder ser parte del grupo de investigación.

## Índice

Introducción .....	1
Marco conceptual .....	4
1.1. Etnomedicina y etnobotánica en el Ecuador .....	4
1.2 Enfermedades causadas por dermatofitos .....	5
1.2.1 Hongos patógenos .....	7
1.2.1.1 <i>Trichophyton rubrum</i> .....	7
1.2.1.2 <i>Trichophyton mentagrophytes</i> .....	8
1.2.1.3 <i>Microsporum canis</i> .....	9
1.2.1.4 <i>Candida albicans</i> .....	9
1.2.2 Farmacoterapia en enfermedades fúngicas .....	11
1.3 La mosquera ( <i>Croton elegans</i> ).....	11
1.3.1 Descripción geográfica .....	12
1.3.2 Usos etnomédicos .....	13
1.4 Extractos vegetales.....	13
1.4.1 Maceración.....	14
1.4.2 Percolación.....	14
1.4.3 Tipos de extractos .....	14
1.4.3.1 Extractos blandos.....	14
1.4.3.2 Extractos secos .....	15
1.4.3.3 Extractos fluidos .....	15
1.5 Ensayos físico químicos.....	15
1.5.1 Sólidos totales .....	15
1.5.2 Densidad relativa .....	15
1.5.3 Índice de refracción y concentración de azúcares.....	15
1.5.4 pH.....	16
1.6 Tamizaje fitoquímico .....	16
1.6.1 Catequinas.....	17
1.6.2 Resinas .....	17
1.6.3 Azúcares reductores .....	17
1.6.4 Lactonas .....	18
1.6.5 Saponinas .....	18
1.6.6 Fenoles y taninos.....	18
1.6.7 Aminoácidos .....	18
1.6.8 Quinonas .....	19

1.6.9 Flavonoides .....	19
1.6.10 Cardenólidos .....	19
1.6.11 Antocianidinas .....	20
1.6.12 Alcaloides .....	20
1.6.13 Triterpenos .....	20
1.7 Métodos de sensibilidad <i>in vitro</i> .....	21
1.7.1 Método de Barry .....	21
1.7.2 Método Kirby Bauer .....	21
Marco metodológico .....	23
2.1 Lugar de investigación .....	23
2.2 Lugar de recolección de la especie vegetal .....	23
2.3 Preparación del material vegetal .....	23
2.3.1 Desinfección, limpieza y secado del material vegetal .....	23
2.3.2 Molienda .....	24
2.3.3 Maceración.....	25
2.3.4 Percolación y filtración .....	25
2.4 Obtención del extracto blando .....	25
2.5 Diluciones de extracto blando.....	26
2.6 Obtención del extracto fluido.....	27
2.6.1 Control de calidad .....	27
2.6.1.1 Índice de refracción y concentración de azúcares.....	28
2.6.1.2 Medición de pH.....	28
2.6.1.3 Densidad relativa .....	28
2.6.1.4 Sólidos totales .....	29
2.6.2 Tamizaje fitoquímico del extracto fluido.....	30
2.6.2.1 Ensayo de Dragendorff .....	30
2.6.2.2 Ensayo de Mayer.....	31
2.6.2.3 Ensayo de Wagner .....	31
2.6.2.4 Ensayo de Baljet .....	32
2.6.2.5 Ensayo de Borntrager.....	32
2.6.2.6 Ensayo de Liebermann-Burchard .....	32
2.6.2.7 Ensayo de Catequinas .....	33
2.6.2.8 Ensayo de resinas .....	33
2.6.2.9 Ensayo de Fehling.....	33
2.6.2.10 Ensayo de espuma.....	34

2.6.2.11	Ensayo del cloruro férrico.....	34
2.6.2.12	Ensayo de la Ninhidrina.....	34
2.6.2.13	Ensayo de Shinoda.....	35
2.6.2.14	Ensayo de Kedde.....	35
2.6.2.15	Ensayo de Antocianidinas.....	36
2.7	Evaluación de la actividad antimicótica.....	36
2.7.1	Activación de cepas fúngicas.....	36
2.7.2	Preparación del inóculo.....	37
2.7.3	Conteo de hongos filamentosos.....	37
2.7.4	Conteo de células: Espectrofotómetro.....	39
2.7.5	Método de siembra.....	40
2.7.6	Siembra en placa por estriado <i>Candida albicans</i> .....	40
2.7.7	Método Kirby – Bauer.....	41
2.7.8	Método modificado de Kirby – Bauer en pozos de agar.....	41
2.8	Análisis estadístico de varianza de una vía.....	41
	Resultados y discusión.....	43
3.1	Rendimiento del extracto blando de la mosquera ( <i>Croton elegans</i> ).....	43
3.2	Control de calidad.....	43
3.2.1	Análisis organoléptico.....	43
3.3	Tamizaje Fitoquímico.....	44
3.4	Análisis físico químico.....	45
3.4.1	Sólidos totales.....	45
3.4.2	Densidad relativa.....	46
3.4.3	Índice de refracción y concentración de azúcares.....	47
3.4.4	Determinación de pH.....	47
3.5	Evaluación de la actividad antimicótica.....	48
3.5.1	Halos de inhibición frente a <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188.....	49
3.5.2	Halos de inhibición frente a <i>Microsporium canis</i> ATCC 36299.....	49
3.5.3	Halos de inhibición frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	50
3.5.4	Halos de inhibición frente a <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533.....	51
3.6	Inhibición relativa.....	52
3.7	Análisis estadístico: Varianza de una vía (ANOVA).....	53
3.7.1	<i>Croton elegans</i> frente a <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188.....	53
3.7.2	<i>Croton elegans</i> frente a <i>Microsporium canis</i> ATCC 36299.....	53
3.7.3	<i>Croton elegans</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	54



3.7.4 <i>Croton elegans</i> frente a <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 .....	54
3.7.5 Análisis probabilístico Tukey para <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188 ..	55
3.7.6 Análisis probabilístico Tukey para <i>Microsporum canis</i> ATCC 36299 .....	56
3.7.7 Análisis probabilístico Tukey para <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533.....	56
Conclusiones .....	57
Recomendaciones.....	58
Referencias .....	59
Anexos .....	66

## Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía de la mosquera ( <i>Croton elegans</i> ) .....	12
Tabla 2. Coordenadas de recolección.....	23
Tabla 3. Análisis organoléptico.....	43
Tabla 4. Resultados de tamizaje fitoquímico. ....	44
Tabla 5. Sólidos totales de extracto fluido al 25% y 50%. ....	45
Tabla 6. Densidad relativa del extracto fluido a una concentración del 25% y 50%.....	46
Tabla 7. Índice de refracción y grados brix del extracto fluido al 25% y 50%.....	47
Tabla 8. Determinación de pH del extracto fluido.....	47
Tabla 9. Inhibición de halos de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188 frente al extracto fluido del 25% y 50%.....	49
Tabla 10. Inhibición de halos de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188 frente al control positivo (Clotrimazol). ....	49
Tabla 11. Inhibición de halos de <i>Microsporum canis</i> ATCC 36299 frente al extracto fluido de 25% y 50%.....	49
Tabla 12. Inhibición de halos de <i>Microsporum canis</i> ATCC 36299 frente al control positivo (Clotrimazol). ....	50
Tabla 13. Inhibición de halos de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 frente al extracto fluido de 25% y 50%.....	50
Tabla 14. Inhibición de halos de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 frente al control positivo (Clotrimazol). ....	50
Tabla 15. Inhibición de halos de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 frente al extracto fluido de 25% y 50%.....	51
Tabla 16. Inhibición de halos de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 frente al control positivo (Clotrimazol). ....	51
Tabla 17. Halos de inhibición: porcentaje de inhibición relativa .....	52
Tabla 18. Análisis de varianza para <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188. ....	53
Tabla 19. Análisis de varianza para <i>Microsporum canis</i> ATCC 36299. ....	53
Tabla 20. Análisis de varianza para <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. ....	54
Tabla 21. Análisis de varianza para <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 . ....	54
Tabla 22. Análisis de Tukey para <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188 . ....	55
Tabla 23. Análisis de Tukey para <i>Microsporum canis</i> ATCC 36299.....	56
Tabla 24. Análisis de Tukey para <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533.....	56

## Índice de anexos

Anexo 1. Ensayo catequinas.....	66
Anexo 2. Ensayo resinas.....	66
Anexo 3. Ensayo azúcares.....	66
Anexo 4. Ensayo lactonas.....	66
Anexo 5. Saponinas.....	67
Anexo 6. Ensayo fenoles y taninos.....	67
Anexo 7. Ensayo aminoácidos.....	67
Anexo 8. Ensayo quinonas.....	67
Anexo 9. Ensayo Flavonoides.....	67
Anexo 10. Ensayo cardenólidos.....	67
Anexo 11. Ensayo Antocianidina.....	68
Anexo 12. Ensayo alcaloides.....	68
Anexo 13. Ensayo alcaloides Mayer.....	68
Anexo 14. Ensayo alcaloides Wagner.....	68
Anexo 15. Ensayo triterpenos/esteroides.....	68
Anexo 16. Halos de inhibición de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 frente a <i>Croton elegans</i> .....	69
Anexo 17. Halos de inhibición de <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188 frente a <i>Croton elegans</i> .....	69
Anexo 18. Halos de inhibición de <i>Microsporum canis</i> ATCC 36299 frente a <i>Croton elegans</i> .....	69
Anexo 19. Halos de inhibición de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 frente a <i>Croton elegans</i> .....	69
Anexo 20. Certificación de <i>Croton elegans</i> .....	70

## Resumen

Como bien se conoce el Ecuador es un país que cuenta con una amplia diversidad vegetal y un gran porcentaje está representado por plantas medicinales, razón por la cual se han desarrollado numerosas investigaciones acerca de la etnomedicina del Ecuador, sin embargo son limitadas las investigaciones realizadas que se enfocan en especies de la serranía ecuatoriana; el presente trabajo investigativo ha tomado como referente una de las especies más utilizadas de esta región, “la mosquera” (*Croton elegans*), misma a la que se le han atribuido múltiples propiedades medicinales, comúnmente se la utiliza como: antiinflamatoria, cicatrizante, antibacteriana y antimicótica, siendo ésta última característica la que sugiere un interés investigativo, evaluando de esta forma su actividad frente a cepas fúngicas causantes de problemas dérmicos, y aplicando variadas metodologías a nivel fitoquímico y microbiológico tales como: maceración, percolación, tamizaje fitoquímico y métodos de sensibilidad de Kirby Bauer y Kirby Bauer modificado, se determinó que de las cuatro cepas fúngicas utilizadas únicamente *Candida albicans* ATCC 10231 no presenta inhibición frente al extracto de la planta a ninguna concentración; en tanto que las cepas filamentosas *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Microsporum canis* ATCC 36299 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 respondieron positivamente a ambas concentraciones del extracto fluido (25% y 50%), no obstante se obtuvo mayor halo inhibitorio al 50% de concentración, concluyendo que *Croton elegans* tiene actividad antimicótica únicamente sobre las cepas utilizadas de origen filamentoso.

**Palabras clave:** *Croton elegans*, *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Microsporum canis* ATCC 36299, *Candida albicans* ATCC 10231.

## Abstract

As well known Ecuador is a country with a wide plant diversity and a large percentage is represented by medicinal plants, why they have developed numerous research on ethnomedicine of Ecuador, however there are limited research done that focus on species of the Ecuadorian highlands, this research work has taken as a reference one of the most commonly used species in this region, "The mosquera" (*Croton elegans*), one to which they have attributed many medicinal properties, commonly it is used as: anti inflammatory, healing, antibacterial and antifungal, the latter being characteristic that suggests an investigative interest, thereby evaluating activity against fungal strains causing skin problems, and applying various methodologies to phytochemical and microbiological level such as: maceration, percolation, phytochemical screening and methods of sensitivity Kirby Bauer and Kirby Bauer modified, It was determined that the four fungal strains used only *Candida albicans* ATCC 10231 has no inhibition against the plant extract at any concentration; while filamentous strains *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Microsporum canis* ATCC 36299 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 responded positively to both concentrations of fluid extract (25% and 50%), nevertheless greater inhibitory halo was obtained at 50% concentration, concluding that *Croton elegans* has antifungal activity only on origin filamentous strains used.

**Key words:** *Croton elegans*, *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Microsporum canis* ATCC 36299, *Candida albicans* ATCC 10231.

## Introducción

En el Ecuador existe una amplia variedad de ecosistemas siendo ésta una de las razones por la que se le atribuye una alta diversidad vegetal y a su vez un gran número de especies endémicas siendo un país inmensamente rico en recursos naturales y cultura (Estrella, Manosalvas, Mariaca, & Ribadeneira, 2005, pág. 27–31), muchas de estas plantas son medicinales y se distribuyen a lo largo de todo el país, las especies que forman parte de la serranía ecuatoriana han sido conocidas desde los inicios de la conquista española y a su vez han ido predominando en las culturas que habitan esta región (Cerón Martínez, 2006, pág. 287), teniendo en cuenta que la importancia de la riqueza cultural etnomédica de una población radica en su capacidad para identificar las plantas curativas cuyos principios activos pueden ser utilizados con efectos positivos y contrarrestar cualquier dolencia, en la actualidad la medicina occidental altamente sofisticada y tecnificada ha llegado a olvidar y a menospreciar el uso de plantas medicinales como recurso terapéutico eficiente, sin tomar en cuenta que un alto porcentaje de los fármacos actuales son derivados sintéticos o extractos de sustancias de origen vegetal (Instituto Nacional de Investigaciones Nutricionales y Médicosociales, 1983, pág. 1); el conjunto de conocimientos de dichas culturas se han acumulado y transmitido durante muchas generaciones en las poblaciones tradicionales indígenas (Ríos, 1991), investigaciones recientes demuestran que las especies vegetales que se expenden en las herboristerías de los mercados a lo largo de la serranía ecuatoriana suman un total de 432 plantas medicinales silvestres, y en este gran grupo se incluye a la mosquera (*Croton elegans*), misma que se le considera como una de las especies que adquiere la población con mayor frecuencia (Cerón Martínez, 2006, pág. 287), y a la que se le atribuyen diversas propiedades etnofarmacológicas entre las que destacan: actividad

antibacteriana, antimicótica, antiviral, antiinflamatoria y gastroprotectora (Chiriboga X. , 2008, págs. 84-91). Al comenzar con el proceso de recolección de datos y poder comparar resultados existió el inconveniente de que son muy limitadas las investigaciones realizadas de la planta en estudio, y al ser una especie endémica solo se obtuvo información local, razón por la que se propone realizar un estudio sobre la especie vegetal en cuanto a sus propiedades medicinales, recalcando que el interés principal de los pobladores que usan la planta es porque ayuda a contrarrestar diversos problemas de salud entre los principales: cicatrizante, antibacterial, antifúngico etc., entre las propiedades mencionadas la de mayor interés para la presente investigación es la actividad antimicótica a razón de que ciertos estudios demuestran que en el Ecuador así como en la mayoría de países del mundo las dermatofitosis son parte de las micosis superficiales que predominan con mayor frecuencia, existiendo ciertos factores de riesgo relacionados a este problema y teniendo en cuenta que hay una alta prevalencia en la etapa infantil, también afecta a poblaciones de limitados recursos socioeconómicos conociendo de antemano que los hongos son organismos oportunistas, otras investigaciones concluyen que hay mayor incidencia de micosis superficial en personas con el sistema inmunológico afectado (Gallart Catalá, Campins Martí, & Moraga Llop, 2000, pág. 491), de la misma manera las dermatomicosis pueden afectar a pacientes que ingresan en una entidad de salud mediante infecciones hospitalarias llamadas también nosocomiales mismas que son afecciones comunes que una persona puede adquirir en un hospital u otro tipo servicio de salud, es decir lo adquiere mientras permanece en el lugar (Guzmán, 2006, pág. 274) y se establece como regla general un plazo de 48-72 horas luego del ingreso hospitalario para determinar que la infección ha sido adquirida en dicha institución, este plazo considera el período de incubación de las infecciones

hospitalarias más frecuentes, los agentes etiológicos incluyen bacterias, virus, hongos y parásitos, en ese orden de frecuencia que pueden provenir de diversos orígenes entre los que se menciona fuentes humanas, dispositivos médicos, reservorios, fuentes ambientales etc. (Macedo & Blanco, 2008, pág. 246–247), y del mismo modo se detecta una prevalencia a nivel mundial de un 5 a 10% de dermatomicosis de los cuales las especies que se han aislado con mayor frecuencia son *Microsporium canis* (44%), *Trychophyton rubrum* (18,6%), *Trychophyton mentagrophytes* (31,4%) y *Candida albicans* respectivamente (Callisaya, Conde, & Choque, 2007, pág. 22) y forman parte importante para la ejecución del presente trabajo investigativo, dichas cepas seleccionadas se ponen a prueba durante el proceso de antibiograma para determinar su sensibilidad frente a la actividad farmacológica de la planta en estudio y en base a ello se plantea como objetivo principal evaluar la actividad antimicótica de extracto de la mosquera (*Croton elegans*) frente a los microorganismos patógenos que causan problemas dérmicos, y del mismo objetivo deriva el efectuar un tamizaje fitoquímico para determinar la presencia o ausencia de ciertos compuestos químicos que contiene la planta, de este modo para poder validar los resultados obtenidos surge una hipótesis alternativa que plantea que el extracto tiene actividad antimicótica.



## **Marco conceptual**

El ser humano en todos los tiempos, pueblos y lugares, se ha enfrentado en algún momento de su vida al grave reto de la enfermedad, y de la misma manera ha recurrido a diversos medios considerados indispensables en su lucha contra dichas enfermedades, teniendo en cuenta que siempre se acude a la automedicación lo que significa que se usen sustancias que se consideran curativas y que a su vez sean de origen animal, vegetal o de un mineral (Instituto Nacional de Investigaciones Nutricionales y Médicosociales, 1983, pág. 2). El discernimiento y la utilización de las plantas medicinales ha sido un proceso paulatino y progresivo que partiendo de la experimentación ha logrado alcanzar con el transcurso del tiempo mayor complejidad; es por esta razón que la mayoría de elementos vegetales que actualmente se utilizan fueron previamente descubiertos por medio de métodos de tanteo y a su vez se fueron descubriendo ciertas cualidades y virtudes curativas de las plantas, estos conocimientos se fueron transmitiendo de generación en generación a través del tiempo y las diversas culturas llegando a formar parte de la Etnobotánica tradicional (Instituto Nacional de Investigaciones Nutricionales y Médicosociales, 1983, pág. 2).

### **1.1. Etnomedicina y etnobotánica en el Ecuador**

En nuestro país aún existen comunidades que utilizan plantas como una fuente curativa, lo que permite describir que este hábito se encuentra vinculado estrechamente con los valores culturales, situación socioeconómica, grado de tecnología y la íntima relación que ha establecido el hombre con el medio ambiente que lo rodea (Instituto Nacional de Investigaciones Nutricionales y Médicosociales, 1983, pág. 3). Pese a la intervención cultural blanco mestiza, las poblaciones

indígenas haciendo uso del conjunto de conocimientos ancestrales concernientes al dominio de la naturaleza por el hombre, han logrado sobrevivir de una manera equilibrada con el medio ambiente (Argüello, 1991, pág. 383). La medicina natural se ha mantenido por mucho tiempo pese a un fuerte proceso de aculturación, de este modo ciertos grupos étnicos que habitan tanto en bosques tropicales como en la Región Andina son los que aún conservan sus tradiciones y dentro de ellas el manejo de plantas medicinales, éste conocimiento etnobotánico prevalece de cierta forma en poblados rurales y aun ejercen una combinación tanto de medicina aborígen, medicina popular española y la medicina moderna (Ríos, 1991).

## **1.2 Enfermedades causadas por dermatofitos**

Los dermatofitos son un amplio grupo de hongos con características taxonómicas, antigénicas, fisiológicas y patogénicas idénticas pero que difieren en características macroscópicas y microscópicas al igual que en sus propiedades enzimáticas y nutricionales. Existen cepas de origen antropofílicos que están vinculados exclusivamente a los seres humanos, y a su vez pueden ser transmitidos de un humano a otro de forma directa o indirecta, pese a esto también existen afecciones que son de origen animal (zoofílicos) que afectan del mismo modo al ser humano y se transmite por contacto directo con el animal infectado o a su vez por contacto con algún tipo de material contaminado (Sánchez-Saldaña, 2009, pág. 227).

Las infecciones denominadas dermatofitosis son micosis superficiales y son producidas por hongos filamentosos, los dermatofitos están en la capacidad de invadir y nutrirse del estrato córneo de la piel y otras estructuras queratinizadas como lo son las uñas y cabello (Vilata, 2005, pág. 73), las infecciones producidas por estos hongos pueden llegar a ser irritantes y tener reacciones molestas, no al extremo de

ser incapacitantes o mortales, puesto que los dermatofitos no penetran en tejidos internos ni mucho menos órganos vitales (Ingraham, 1998, pág. 655).

Los problemas dérmicos que se presentan con mayor frecuencia son: la tiña tonsurante, es una infección dermatofítica que afecta al cuero cabelludo, y suele presentarse con mayor frecuencia en los niños, la producen varias cepas patógenas: *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum audouinii* (Iowa State University, 2005, pág. 2), en el caso de la *Tinea corporis* pueden presentarse con pústulas brillantes y rojas; la piel tiende a una hiperpigmentación cuando la lesión comienza a ocupar mayor área de tejido, inicialmente afecta la parte del tronco, las extremidades y el rostro, puede ser producida por ciertas cepas fúngicas como son: *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton verrucosum* (Sleinman, y otros, 2007, pág. 121), otra zona que también se ve afectada es la cara y la barba, esta tiña puede presentar lesiones pustulosas purulentas y nódulos, y una de las causas para que se produzca es el contacto con animales de granja y los principales responsables son: *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton verrucosum* (Moreno & Servitje, 2006, pág. 291), otra tiña bastante conocida es la tiña del pie de atleta, la infección se caracteriza por mostrar grietas y escamas en el dedo gordo del pie, o desprendimiento de piel en la planta y la parte lateral del pie, los principales responsables de esta afección son: *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum persicolor*, el grupo de mayor afectación son pacientes con el sistema inmunológico comprometido como por ejemplo pacientes con SIDA, pueden contagiarse con estos dermatofitos por su estado clínico y bajas defensas, y dicha micosis puede ser disgregada a otros órganos (Iowa State University, 2005, pág. 3).

## 1.2.1 Hongos patógenos

### 1.2.1.1 *Trichophyton rubrum*

Este género es una de las causas más habituales de infecciones de los pies y las uñas, se pueden observar más a menudo infecciones en personas adultas además que es una de las cepas más utilizada para investigaciones. Una característica especial es la presencia de macroconidios lisos con una morfología de clava y paredes finas (Forbes B. , 2007, pág. 663). Su estructura es filamentosa con microconidos piriformes, mantiene una forma irregular, se pueden presentar en dos tipos de colonias: la primera destacan cepas de color rojo tanto en el anverso y reverso mientras que el otro tipo de colonia tiene como característica principal su color blanco en la parte superior y rojizo en reverso. Tiene un crecimiento aceptable en la mayoría de medios de cultivo, cuenta con un aspecto finamente veloso a simple vista, que con el paso del tiempo va tomando un semblante aterciopelado, se puede observar una especie de surcos sin mayor profundidad, que van desde el centro hacia el borde (Aristegui, 2003, pág. 43), tiene un crecimiento lento de 7 a 14 días hasta llegar a la madurez con una temperatura óptima de entre 25 y 30 °C (Forbes B. , 2007, pág. 663). *Trichophyton rubrum* es el causante de una variedad de *Tinea pedis* que afecta a las uñas (Wilkinson, 1990, pág. 215). Para la fase experimental se utilizó la cepa *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, su presentación es en una ampolla liofilizada y difiere en ciertas características de crecimiento con la cepa original, teniendo en cuenta que su desarrollo es más rápido, es decir el tiempo de crecimiento es menor que va de 4 a 5 días y puede desarrollarse fácilmente en variados medios de cultivo: Agar Dextrosa Sabouraud (SDA), Agar Dextrosa Patata (PDA) y en medio líquido de levadura (American Type Culture Collection, 2014), la razón principal

para usar cepas ATCC es la optimización de recursos y tiempo, a razón de que son cepas que tienen un desarrollo rápido y son únicamente para uso a nivel de laboratorio; teniendo en cuenta que las cuatro cepas utilizadas en el presente estudio son aplicadas solamente para pruebas de sensibilidad y no pueden ser utilizadas para pruebas *in vivo*.

#### **1.2.1.2 *Trichophyton mentagrophytes***

Se pueden encontrar dos tipos de colonias: la variedad vellosa, que va adquiriendo un color crema al llegar su etapa de madurez y la otra variedad granular con una textura pulverulentas de un color crema o amarillo (Garcia, 1994, pág. 426). La variedad vellosa o algodonosa a menudo pueden formar hifas, las mismas que entrelazarán una telaraña que parten de una zona central. La variedad granular puede tener un pigmento rojo muy característico de *Trichophyton* (Koneman, 2008, pág. 1140). Su crecimiento es relativamente rápido ya que llegará a su madurez en un tiempo aproximado de 7 a 10 días, esta cepa presenta numerosos microconidios de forma redonda que frecuentemente aparecen agrupados como racimos de uvas o se forman lateralmente junto a las hifas. Los macroconidios tienen paredes lisas y delgadas y tiene una forma de clavos, dependiendo de la cepa puede producir enfermedades que afectan a los pies y a la piel en general causando *Tinea capitis*, *Tinea corporis* y *Tinea barbae* (Forbes B. , 2007, pág. 664). La característica principal de la cepa *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 es su corto período de crecimiento en Agar Selectivo para Dermatofitos (2 a 5 días) a una temperatura de 25 y 26°C (OXOID, 2003).

### **1.2.1.3 *Microsporum canis***

Este microorganismo presenta colonias con una textura algodonosa, y muestra un color blanco o parduzco (Lloret, 2009), el género *Microsporum* puede afectar al pelo y la piel (Forbes B. , 2007, pág. 664), entre sus características principales es que presentan macroconidios con estructuras delgadas y lisas (Koneman, 2008, pág. 1139), y su crecimiento es rápido, va de los 3 días a una semana hasta llegar a su etapa de madurez, tienen una textura algodonosa, frecuentemente con un botón que destaca en el centro (Garcia, 1994, pág. 426). Al principio las colonias presentan un color blanco, con el paso del tiempo se formaran pigmentos de color amarillento, en la parte del reverso tiene un color amarillo más intenso que el antes mencionado casi llegando al castaño, y obtiene una textura plumosa (Koneman, 2008, pág. 1139). Microscópicamente, se pueden observar macroconidios y microconidios, en el primer caso tienen paredes gruesas a rugosas, multicelulares, puntiagudos, con tabiques múltiples, no es común que se observen microconidios (Forbes B. , 2007, pág. 664), pero cuando aparecen pueden estar esparcidos y nacer directamente del lado de las hifas (Koneman, 2008, pág. 1139). Se utilizó la cepa ATCC 36299, las condiciones de temperatura para su crecimiento son entre 24 y 26°C y denota un signo de viabilidad pasados de 2 a 4 días después de su incubación, tiene un buen desarrollo en medio SDA, PDA y Extracto Agar Malta (American Type Culture Collection, 2014), razón por la cual es óptima para el presente trabajo investigativo.

### **1.2.1.4 *Candida albicans***

Esta cepa se presenta como una micosis oportunista, al ser una levadura es capaz de generar un pseudomicelio con una forma ovoide, y tienen un pseudofilamento, es un microorganismo unicelular con una forma globosa (Romero, 2007, pág. 1199). Este

tipo de microorganismos nacen de un talo unicelular, algunas de ellas pueden encontrarse en un estado teleomorfo es decir sexuado (Negroni, 2009, pág. 399). Para llevar al proceso de infección, pasa de su estado de levadura a otra fase de crecimiento micelar, este microorganismo puede afectar frecuentemente la piel, mucosas, uñas, y tubo digestivo, además infectar órganos internos y lograr producir enfermedades sistémicas (Vilata, 2005, pág. 97). *Candida albicans* es responsable del 70 al 80% de las infecciones de candidiasis; se la puede encontrar con regularidad como saprofito en la orofaringe con una incidencia del 50% en la población y presente en un 25% en la mucosa vaginal de mujeres asintomáticas (Vilata, 2005, pág. 97), en esta levadura se ha podido encontrar una sustancia llamada adhesina la cual ayuda en la colonización y permanencia del microorganismo, así como la adherencia a materiales extraños (Romero, 2007, pág. 1199). Este microorganismo se encuentra clasificado dentro del grupo de los deuteromicetos, en la familia *Cryptococcaceae* y se desarrolla con una gran facilidad en medios de cultivos artificiales, en general se puede observar un crecimiento a partir de las 24 horas de haber sido sembradas. El color de las colonias es blanco con una consistencia cremosa y con aspecto brillante. Su máximo desarrollo se puede observar de 48 a 72 horas y su incubación se lleva a cabo a una temperatura óptima de 25°C, la principal afección es la candidiasis la misma que afecta a cualquier área de la piel incluidas las mucosas (Negroni, 2009, pág. 400). A diferencia de las cepas originales *Candida albicans* ATCC 10231 tiene un crecimiento sumamente rápido obteniendo resultados en un período de entre 24 y 48 horas teniendo un buen desarrollo en medio SDA o PDA a una temperatura de entre 20 y 25°C (Hardy Diagnostics, 2015).

### **1.2.2 Farmacoterapia en enfermedades fúngicas**

Uno de los antimicóticos comúnmente usados en el área dermatológica es el Fluconazol el cual es un compuesto triazólico, este es un medicamento habitual para la eliminación de infecciones fúngicas (Fica, 2004, pág. 27), ejerce una efectividad sobre la mayor cantidad de cepas del género *Candida* ya que actúa en la síntesis del ergosterol mediante la inhibición de la enzima 14 $\alpha$ -lanosterol-desmetilasa que evita su desarrollo y reproducción (Ausina, 2005, pág. 119), es un fungistático que tiene su eficacia frente a muchas levaduras y dermatofitos, por su amplio espectro. El fluconazol posee una vida media prolongada de entre 25 a 30 horas aproximadamente, es usado en el tratamiento de la tiña y candidiasis vaginal con buenos resultados (Fitzpatrick, 2009, pág. 2215). Otro de los compuestos de amplio espectro que se utiliza en el área farmacéutica para el tratamiento de afecciones micóticas es el clotrimazol, la crema se puede emplear en todas las dermatomicosis contaminadas por dermatofitos ya que es de amplio espectro (Bello, 1991, pág. 323). Clotrimazol es un imidazol que actúa frenando la síntesis de un constituyente de la pared celular de los hongos a través de la inhibición de la 14 $\alpha$ - desmetilasa de lanosterol lo cual impide el desarrollo del patógeno (Fitzpatrick, 2009, pág. 2116).

### **1.3 La mosquera (*Croton elegans*)**

La mosquera es una hierba perenne, alcanza un tamaño de hasta 1,2 m de altura, esta especie se puede desarrollar en terrenos abandonados, al borde de carreteras y quebradas, tiene en su composición una sustancia gomosa, que es el látex que posee un color verde oliva y en el momento que tiene contacto con el aire adquiere un color rojizo y de sabor astringente; la raíz es profunda y con una buena resistencia a la sequía, en tanto que el tallo es leñoso propio de plantas dicotiledóneas que tiene un



color blanquecino a causa de los numerosos pelos estrellados que posee, tiene una ramificación acrótona, sus hojas son alternas, de forma redondeada, enteras y pecioladas, el envés es pubescente de color blanquecino, mientras que el haz es glabro y de un color verde, cuando las hojas se hacen viejas se tornan rojizas, llegando a una longitud de 15 cm de largo por 12 de ancho, en el caso del fruto, éste es una cápsula tricoca pequeña con un diámetro de 0,5 cm (Tafur Recalde, 2011). Tiene un subfrútice de tan sólo 1 metro de altura, sus hojas ovaladas envejecen cambiando de color verde a rojo, mientras sus flores se agrupan en racimos y posee un color crema. Puede ser tóxica para algunos animales, pues segrega un látex que contiene ácidos (Yanez S. L., 2011).

Tabla 1.

Taxonomía de la mosquera (*Croton elegans*) (Anexo 20).

Clase	<b>Equisetopsida C. Agardh</b>
Subclase	Magnoliidae Novák ex Takht
Superorden	Rosanae Takht
Orden	Malpighiales Juss. Ex Bercht. & J. Presl
Familia	Euphorbiaceae Juss.
Género	<i>Croton</i> L.
Especie	<i>Elegans</i> Kunth
Nombre común	Mosquera

Nota: Herbario Universidad Católica de Quito, 2015

### 1.3.1 Descripción geográfica

La planta se distribuye en su mayoría en la zona interandina seca entre los 1500 y 3500 metros, y se reporta como una especie considerablemente abundante a nivel local, sobre todo en los valles secos, comúnmente se puede encontrar en zonas intervenidas y en los bordes de caminos, sin embargo es posible que en un ámbito geográfico abarque muchas más localidades, son diversos los nombres que se le da a

la planta entre los más comunes están: *Croton menthodurus* y *Croton wagneri*; una de las principales amenazas es la deforestación, junto con la colonización y los incendios provocados por el ser humano. Se la considera una maleza que se distribuye de una manera abundante y es un taxón de preocupación menor (Valencia, Pitman, León-Yáñez, & Jørgensen M., 2000, pág. 193).

### **1.3.2 Usos etnomédicos**

Uno de los principales componentes que tiene la planta es la resina, a la cual se le atribuye variados usos, el más común es aplicar unas gotas en piezas dentales con presencia de caries, también para curar el sangrado de las encías, y del mismo modo se la puede usar para la eliminación de verrugas. Al mezclar con otras especies vegetales como el llantén (*Plantago major*) se realizan gargarismos para aliviar la inflamación de las amígdalas, y suele usarse también como desinfectante de heridas (Chiriboga, 2008, págs. 77-78).

### **1.4 Extractos vegetales**

Un proceso de extracción está determinado por la separación de una mezcla de sustancias, valiéndose de uno o varios disolventes para poder obtener dos elementos: la solución que se extrae en el respectivo disolvente (extracto) y el residuo que queda al final. Durante el proceso de trituración las estructuras del material vegetal se destruyen en su mayoría, por lo tanto es imprescindible el grado de finura que se obtenga ya que puede favorecer en la disolución. Al poner en contacto la droga en polvo con el líquido de extracción se disuelven las sustancias o moléculas que conforman la droga, mismas que son lavadas y arrastradas de los fragmentos celulares por el disolvente mediante un lavado celular, y al mismo tiempo ocurre el proceso de difusión celular (Guerra Corado, 2005, pág. 14).

### **1.4.1 Maceración**

Es una técnica extractiva discontinua sólido-líquido, del contenido químico de una planta y su proceso radica en colocar la droga en contacto con un solvente, estableciendo de esta manera las proporciones adecuadas siendo el solvente el que contenga mayor volumen para el proceso, es decir se mantiene en un equilibrio de concentración entre la droga y el solvente conservando sus activos (Valverde, 2000, págs. 41-45).

### **1.4.2 Percolación**

Al ser un proceso de extracción continua es necesario permitir el paso del solvente seleccionado a través de la droga, el proceso se lleva a cabo mediante el uso de un percolador, este equipo mantiene húmeda a la droga e impide la evaporación del solvente y a su vez logra que éste pueda filtrarse, trasladando consigo la mayor cantidad de compuestos activos del material vegetal para posteriormente obtener una solución líquida sin residuos vegetales (Valverde, 2000, págs. 41-45).

### **1.4.3 Tipos de extractos**

#### **1.4.3.1 Extractos blandos**

Tienen una consistencia semejante a la miel; debido a la absorción de la humedad atmosférica suelen presentar una consistencia de menor densidad, poseen una concentración de principio activo superior a la droga vegetal, alrededor de 2 a 6 g de droga por gramo de extracto (Lizcano Ramón & Vergara González, 2008, pág. 27), tienen una consistencia de masa espesa similar a la breya con un contenido de humedad entre 15 y 25% (Guerra Corado, 2005, pág. 24).

#### **1.4.3.2 Extractos secos**

Se considera un extracto seco cuando el solvente ha sido eliminado cerca de su totalidad y a su vez contiene aproximadamente de 5 a 8% de humedad, y fácilmente se lo puede reducir a polvo lo cual hace más práctica su manipulación (Lizcano Ramón & Vergara González, 2008, pág. 27).

#### **1.4.3.3 Extractos fluidos**

De acuerdo a la USP (United States Pharmacopeia) se los define como mezclas líquidas de drogas que provienen de un origen vegetal y a su vez deben contener alcohol como solvente o algún compuesto extractivo, y del mismo modo que por cada 100 ml contenga 100g de la droga vegetal (Remington, 2003, pág. 873).

### **1.5 Ensayos físico químicos**

#### **1.5.1 Sólidos totales**

Constituyen la suma tanto de los sólidos disueltos como de los sólidos suspendidos de un elemento, y corresponde a todo el residuo seco, lo que se debe a la evaporación de la parte líquida que contiene el material, este residuo incluye tanto compuestos orgánicos e inorgánicos (Rigola Lapeña, 1990, pág. 32).

#### **1.5.2 Densidad relativa**

“Es en cociente de la masa de cualquier sustancia entre la masa de un volumen igual de agua en las mismas condiciones. Esta razón equivale a la densidad de una sustancia dividida entre la densidad del agua” (Burns, 2011, pág. 62).

#### **1.5.3 Índice de refracción y concentración de azúcares**

El índice de refracción es una característica particular que poseen diversas sustancias para desviar la luz, este proceso puede ser observado con el uso de un equipo

llamado refractómetro (Moreno Amado, 2003, pág. 16), en su estructura contienen un prisma que es por donde atraviesa la luz hasta llegar a la sustancia en análisis. Similar al índice de refracción los grados brix se analizan con el uso del mismo equipo y el valor obtenido constituye una medida que representa el contenido de azúcar de una sustancia (FAO, 2007, pág. 9).

#### **1.5.4 pH**

La concentración de pH se refiere a la agrupación de iones hidrógeno activos y de iones hidróxidos presentes en cualquier compuesto, lo que implica que puede ser alcalino o ácido, dependiendo de sus elementos que contenga, llegando a ser neutro con un valor de 7, bajo el punto neutro se encuentran los valores ácidos y superior al mismo se ubican los valores alcalinos (Moreno Casco & Moral Herrero, 2008, pág. 319).

#### **1.6 Tamizaje fitoquímico**

Involucra una de las etapas principales de la investigación fitoquímica, el proceso establece que mediante reacciones de coloración se pueden determinar cualitativamente los grupos químicos presentes en la planta (Rocha de Albuquerque Lúcio, 2000, pág. 198). Los compuestos más importantes de metabolitos que pueden estar o no presentes en una especie vegetal se distribuyen en cuatro grandes grupos: terpenos, compuestos fenólicos, el grupo de los glicósidos y finalmente los alcaloides, y a su vez de cada grupo derivan otros compuestos químicos (Ávalos García & Pérez-Urria Carril, 2009, págs. 122-139), siendo los más relevantes para la investigación los que se nombran a continuación:

### **1.6.1 Catequinas**

Son compuestos polifenólicos que se les atribuye ciertas características como la insolubilidad en el agua y la carencia de color, también intervienen en las propiedades de astringencia y además participan en el amargor de una planta, tienden a una rápida oxidación (Pereda Rodríguez, 1995, pág. 127).

### **1.6.2 Resinas**

Son componentes derivados de la savia de algunas especies vegetales, obtenidos de una forma natural o inducida mediante una incisión en el tejido de la planta, la mayoría están compuestas por ácidos, aceites y también por alcoholes resinosos, cuando se han eliminado los aceites etéreos tiende a solidificarse atribuyéndole la consistencia similar a la brea, son solubles en algunas sustancias orgánicas pero insolubles en agua (Doerner, 1998, pág. 94), razón principal que demuestra la presencia de las mismas en el ensayo.

### **1.6.3 Azúcares reductores**

Pertencen al grupo de los carbohidratos y sus características principales son: producen reacciones con grupos carbonilo e hidroxilo mediante un proceso de hidrólisis para formar monosacáridos, y pueden reducir ciertos compuestos en condiciones alcalinas, esto debido a que en su estructura molecular poseen un carbono libre anomérico (isómero que contiene más de 5 átomos de carbono y no posee una unión hemiacetálica), lo que quiere decir que no se encuentra unido al enlace glucosídico (Blanco Gaitán, Teijón Rivera, Agrasal Aragón, & Olmo López, 2001, pág. 198) y al aplicar los reactivos de Fehling o Benedict dan resultados positivos.

#### **1.6.4 Lactonas**

Su estructura la constituye un éster cíclico, esta molécula se produce por medio de una reacción por condensación en la que participan un alcohol en conjunto con un ácido carboxílico (Albores Velasco, Caballero Arroyo, González Quezada, & Pozas Horcasitas, 2006, pág. 97), para su identificación se aplica el reactivo de Baljet.

#### **1.6.5 Saponinas**

Es uno de los compuestos más tóxicos que se incluyen en el grupo de metabolitos secundarios de una planta, esta toxicidad se debe a que puede reaccionar con esteroides, son glicósidos y su propiedad principal es la consistencia jabonosa, al contener una sola molécula soluble en lípidos y en contacto con el agua producen características detergentes (Taiz & Zeiger, 2006, pág. 541–542), si genera espuma existe la presencia de saponinas.

#### **1.6.6 Fenoles y taninos**

Una característica importante es su estructura sólida cristalina por lo tanto es incoloro y cuando se expone a la luz tiende a oscurecerse, posee un olor particular es soluble al agua, y su gran mayoría son alérgenos (Acuña Arias, 2006, pág. 98), en tanto que los taninos se los caracteriza por su sabor astringente mismo que tiene la función de protección contra insectos (Lastra Menéndez, 2001, pág. 104), el cloruro férrico es el compuesto indicador de la presencia de estas sustancias.

#### **1.6.7 Aminoácidos**

La estructura química de un aminoácido consta de un grupo carboxilo y un grupo amino, que en conjunto forman péptidos y a su vez la congregación de ellos constituye las proteínas, mismas que tienen una función importante de regulación y

estructural. Las plantas tienen la capacidad de formar sus propias proteínas en presencia de nitrógeno mineral, característica que no tienen los animales (Syngenta, 2010), el ensayo de ninhidrina determina su presencia o su ausencia en una especie vegetal.

### **1.6.8 Quinonas**

El grupo de las quinonas corresponden a pigmentos y estructuralmente están formadas por dicetonas cíclicas, se ubican en la corteza teniendo una coloración amarillenta y que puede tornarse de color negro, sin embargo la mayor parte tienen un color rojo o amarillo y algunos compuestos llegan al color verde y azul, otra propiedad es la capacidad mordiente antibacteriana (Sing de Ugaz, 1997, pág. 137), la presencia de pigmentos ayuda a identificación de estas sustancias mediante el ensayo de Borntrager.

### **1.6.9 Flavonoides**

Se encuentran en ciertas plantas como glicósidos de azúcares, sus unidades derivan de una estructura llamada fenilbenzopirona, son de color amarillo y forman parte de los fluidos celulares y pétalos, también pertenecen al grupo de colorantes naturales tienen aplicaciones terapéuticas (Primo Yúfera, 2007, pág. 915), para conocer si existe la presencia de flavonoides se aplica el ensayo de Shinoda.

### **1.6.10 Cardenólidos**

La particularidad de este grupo es que son altamente tóxicos para cualquier animal, lo que le proporciona un sabor amargo, está formado por un núcleo esteroídico tetracíclico, para el ser humano es igual de tóxico en altas dosis afecta principalmente al músculo cardíaco pero en dosis terapéuticas aporta con un control



en los latidos del corazón (Taiz & Zeiger, 2006, pág. 541–542), su identificación se establece mediante un ensayo de Kedde.

#### **1.6.11 Antocianidinas**

Estructuralmente están formadas por sales de benzopirilo lo que les provee un color rojizo, los compuestos quinónicos son derivados de este grupo mediante una reacción de hidrólisis en presencia de un medio alcalino o ácido, las antocianidinas pueden estar combinadas con algunas moléculas de glucósidos (Sanz & Gallego, 2001, pág. 76).

#### **1.6.12 Alcaloides**

El nitrógeno es el componente base de estos compuestos teniendo una estructura heterocíclica y además provienen del triptófano, se producen en hojas, semillas y corteza de las plantas, tienen un pH básico y su sabor es amargo, son estimulantes del sistema nervioso central (Ege, 2000, pág. 1104–1105), Mayer, Wagner y Dragendorff son ensayos que se aplican para conocer la presencia de alcaloides.

#### **1.6.13 Triterpenos**

Al clasificarlos se considera el grupo más abundante, este grupo de compuestos orgánicos con un total de 30 carbonos en su estructura siendo su unidad principal el isopreno, son de origen aromático entre los que se mencionan alpineno, mentol, limoneno que le atribuyen ciertas propiedades medicinales a la planta que lo contenga, aún se están encontrando nuevos terpenos (Peña Díaz, Arroyo Begovich, Gómez Puyou, & Tapia Ibarguengoytia, 2004, pág. 117), el ensayo empleado para identificar triterpenos y esteroides se denomina Lieberman Buchard.

## **1.7 Métodos de sensibilidad *in vitro***

Una de las partes más importantes para el desarrollo de cualquier investigación con microorganismos es el antibiograma, ésta es una técnica que permite identificar la sensibilidad de dicho microorganismo frente a un agente antimicrobiano particular (Warnock, 2008, pág. 421).

### **1.7.1 Método de Barry**

El fundamento de esta técnica consiste en un proceso de combinación o mezcla entre el medio de cultivo con el inóculo, y en el momento de solidificarse los microorganismos que están distribuidos en todo el medio comienzan a desarrollarse en niveles diferentes, es importante que el medio de cultivo utilizado no se gelifique antes de colocar el inóculo y debe existir una temperatura controlada, algunas cepas no soportan temperaturas muy altas (Triviño, 2011, pág. 46).

### **1.7.2 Método Kirby Bauer**

Es un procedimiento estandarizado que evalúa de una forma directa a los antimicrobianos y al microorganismo patógeno, en donde ambos componentes están en contacto en un mismo medio *in vitro* con la finalidad de analizar la actividad que tiene la droga sobre el dinamismo microbiano, de este modo se evalúa la susceptibilidad del microorganismo, o por el contrario la resistencia al fármaco, no obstante este método estandarizado no tiene las condiciones similares al medio en donde se desarrolla el patógeno, por lo que no se obtendrían resultados similares al extrapolar *in vivo* (Forbes, Sahn, & Weissfeld, 2009, pág. 188).

### **1.7.3 Método modificado de Kirby Bauer**

En este método se realiza una modificación sustituyendo los disco de papel utilizados en el método convencional por perforaciones en el medio de cultivo solidificado realizados con un sacabocados, en los cuales se añadirá las soluciones deseadas (Toribio, 2007, pág. 46), el motivo de la modificación de la técnica se debe a varios factores como: la limitada capacidad de absorción del disco de papel, se requiere un alto volumen de inoculación, y las características del extracto que no permite que el disco se adhiera al agar.

## Marco metodológico

### 2.1 Lugar de investigación

El trabajo experimental se desarrolló en los laboratorios del área de Ciencias de la Vida que se encuentra en la Universidad Politécnica Salesiana, Sede Quito, Campus Girón.

### 2.2 Lugar de recolección de la especie vegetal

La recolección se efectuó en el norte de la ciudad de Quito, en la Parroquia de Ponciano, en el sector del Estadio Liga Deportiva Universitaria, la especie en estudio se ubicó en una quebrada, en donde tenía un crecimiento silvestre.

Tabla 2

Coordenadas de recolección.

Lugar de recolección	Coordenadas geográficas	Altitud
Ponciano bajo	SO°6'14.5764, W78°29'18.834	2700 msnm

Nota: tomado de GPS (Global Positioning System), 2015.

### 2.3 Preparación del material vegetal

#### 2.3.1 Desinfección, limpieza y secado del material vegetal

Una vez recolectada la planta debe ser transportada de forma inmediata, que no supere las 12 horas debido a los procesos de óxido/reducción que sufren las plantas una vez que han sido cortadas, todo el proceso debe ser consecutivo puesto que si se almacena el material vegetal demasiado tiempo se puede generar un proceso de descomposición, debido a que la humedad máxima que soportan las plantas una vez alejadas de su ambiente natural que es de aproximadamente 35%, y a su vez puede

ocasionar un proceso de óxido/reducción de algún metabolito secundario no deseable para la investigación, es por esto que al momento de la recepción de la planta se retiró enseguida el material extraño que ésta contenía (ramas, insectos, piedras, etc.), se seleccionaron las hojas que no contengan ningún tipo de daño ya sea por insectos, por el deterioro o tenga algún tipo de lesión en el tejido foliar, posterior a la clasificación del material vegetal, se procedió al lavado del mismo con abundante agua a temperatura ambiente, el proceso se efectuó 4 veces debido a la considerable cantidad de partículas contenidas en el material, inmediatamente después del lavado se colocaron las hojas en una solución de hipoclorito de sodio al 1% aproximadamente por 10 minutos, con el fin de disminuir la contaminación por bacterias u hongos. Las condiciones climáticas de recolección fueron óptimas con temperaturas de entre 25 y 28°C, razón por la cual se eligió un secado natural, se obtuvo el material completamente seco en una semana.

### **2.3.2 Molienda**

Previo al proceso de maceración se procedió con la molienda, para ello se pesó aproximadamente 1 kg del material vegetal seco y mediante el uso de un molino manual se fraccionó toda la estructura de las hojas, hasta obtener una medida de partículas de aproximadamente 235  $\mu\text{m}$ , de modo que adquiriera una consistencia similar al polvo, específicamente se habla de partículas finas, de acuerdo a la USP las partículas finas están en una categoría en donde el rango de medida va de 235 a 280  $\mu\text{m}$ , un aspecto a considerar son las condiciones físicas del molino, el mismo que debe estar completamente limpio, en el caso de contener residuos de otro tipo de material vegetal pueden alterar los resultados de la investigación.

### **2.3.3 Maceración**

Para lograr que el contenido de droga pueda liberarse se efectuó un proceso de maceración directa ya que no hubo una humectación previa a este proceso, se sumergió la planta triturada en alcohol potable al 90% durante 60 minutos, en una proporción de 1:4 contenido en un recipiente, y removiendo cada 10 minutos durante 1 hora para que se pueda extraer toda la droga contenida en el polvo que se obtuvo de la molienda (Valverde, 2000, págs. 41-45).

### **2.3.4 Percolación y filtración**

Una vez efectuado el proceso de maceración de la droga vegetal se trasladó el material al percolador, el equipo tiene una capacidad superior a los 1000 ml de contenido, el mismo que permaneció cerrado herméticamente teniendo en cuenta que se utiliza alcohol potable a una concentración del 90%, por lo que es un compuesto altamente volátil, el solvente con la droga permanecieron en contacto aproximadamente 72 horas a temperatura ambiente antes del filtrado, concluidas las 72 horas se procedió a recolectar la solución con la droga vegetal disuelta, para lo cual se utilizó un envase de color ámbar con el objetivo de impedir algún daño por efecto de la luz. Mediante un proceso de vacío con el uso de un equipo compresor que utiliza una bomba para la extracción de aire se produjo el proceso de filtrado al vacío, para ello se utilizó un matraz y un embudo en donde se colocó papel filtro de celulosa e inmediatamente se añadió la solución a filtrar.

### **2.4 Obtención del extracto blando**

Una vez terminado el proceso de filtración se llevó a cabo la eliminación del solvente que en este caso es alcohol potable al 90%, mediante el uso de un equipo rotavapor el cual extrae únicamente el solvente de la solución y lo transfiere a un balón de vidrio,

en tanto que el extracto de la droga vegetal se va acumulando en el recipiente original de la solución que es otro balón de vidrio de 500 ml, el equipo rotavapor está acoplado a un baño maría, mismo que permaneció en contacto con el balón de vidrio con la solución obtenida previamente, el agua utilizada para el baño maría se encontraba a una temperatura de 40°C y a su vez el equipo principal tiene un dispositivo de rotación que se colocó a 250 rpm mientras permanecía en el baño maría, todo el proceso concluyó en un lapso de aproximadamente 72 horas con una inspección continua de la válvula, es decir abriéndola y cerrándola, de este modo controlando el proceso cada 15 minutos durante 6 horas diarias con el fin de que la presión no llegue a valores altos, pasadas las 72 horas se comienza a distinguir la consistencia blanda del extracto pues éste tiene una textura similar a resina. Para la determinación del porcentaje de rendimiento se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%R = \frac{M1}{M2} \times 100$$

M1: muestra obtenida (extracto blando) en gramos.

M2: muestra del material seco a partir de la molienda en gramos.

## **2.5 Diluciones de extracto blando**

Una vez obtenido el extracto blando del material vegetal, se procedió a pesar 5g del mismo, mediante el uso de una pipeta aforada se colocaron 10 ml de solvente DMSO (dimetilsulfóxido) sobre los 5g del extracto en un balón aforado a 10 ml, para que se disuelva por completo, el extracto junto con el solvente se colocaron en el equipo de ultrasonido por un período de 20 a 30 minutos inmersos en agua, la principal función de este equipo es la emisión de ondas vibratorias las mismas que hacen que las moléculas de un cuerpo se dispersen o separen, estas ondas son producidas por efecto de una tensión eléctrica, seguidamente se tomaron 5 ml de la solución ya preparada

para colocarlas en otro balón, sobre ésta solución se añadieron 5 ml del mismo solvente para alcanzar al aforo de 10 ml, se realizó este procedimiento para 6 balones aforados es decir se obtuvieron 6 concentraciones diluidas iniciando al 5%, 2.5%, 1.25%, 0.62%, 0.31% y 0.15%.

## **2.6 Obtención del extracto fluido**

Para la obtención del extracto fluido se inició con el proceso de molienda del material vegetal, a continuación se pesaron 700 g de la droga contenidos en un recipiente y sobre éste se colocó el solvente (alcohol 90%) en una relación 1:4 lo que significa que por cada gramo de droga presente existen 4 ml de solvente, dejando en reposo por un período de 30 minutos, terminado el proceso de maceración se trasladó a un percolador aforando hasta su máxima capacidad, y dejando en reposo durante 72 horas, el procedimiento descrito se determinó para el extracto al 25%, en tanto que para el extracto fluido a una concentración del 50% tuvo el mismo proceder con la única diferencia de las proporciones ya que en ésta ocasión fue de 1:2 para lograr una solución más concentrada. Finalmente se obtuvo un total de 2800 ml de extracto fluido al 25% y 1400 ml de extracto fluido al 50%.

### **2.6.1 Control de calidad**

En el desarrollo del proceso se establecieron varios ensayos para determinar ciertas características físicas y químicas de la droga, comenzando con un análisis organoléptico, mismo que comprende algunas características de color, olor y textura del extracto obtenido, siendo un procedimiento bastante sencillo en el cual se colocaron 2 g de extracto en un vidrio reloj y se procedió al análisis, continuando con la determinación del índice de refracción, grados brix, pH, densidad relativa y sólidos totales.



### **2.6.1.1 Índice de refracción y concentración de azúcares**

Inicialmente se colocó una gota de agua destilada en el prisma de refracción con ayuda de una piseta, evitando que se formen burbujas, se cerró cuidadosamente la tapa superior, y con las perillas de medición se procedió a calibrar de modo que quede enfocada la línea límite del campo visual, determinando que la parte oscura y la clara pasen directo por el centro de la X. Con el equipo calibrado, se procedió de manera inmediata a realizar la lectura con el extracto alcohólico ya obtenido, añadiendo una gota del mismo en el prisma de refracción continuando con el mismo proceder que se realizó previamente con el agua destilada.

El refractómetro permite una lectura del índice de refracción y la concentración de azúcares en una determinada solución. Para una observación más precisa, es necesario tomar en cuenta la temperatura, de entre 20 y 25 °C, es ideal conectar el equipo a un reflujo de agua para mantener la temperatura estable.

### **2.6.1.2 Medición de pH**

Para calibrar el potenciómetro se utilizó una solución reguladora, para la lectura del extracto se colocaron 50 ml en un vaso de precipitación, se introdujo el electrodo, manteniendo un contacto constante con el extracto, finalmente el equipo proporcionó el valor perteneciente al extracto, el proceso se efectuó por triplicado.

### **2.6.1.3 Densidad relativa**

Previo a realizar las mediciones se realizó un lavado y secado meticuloso de un picnómetro de 10 ml, la manipulación de los quipos e instrumentos durante todo el proceso se realizó con el uso de guantes de látex para no afectar los resultados, ya que la piel siempre tiene residuos de grasa o partículas y pueden alterar los resultados

de la medición. Para la primera lectura, se procedió a pesar el picnómetro en una balanza analítica, el instrumento a usar tuvo ciertas condiciones: vacío, limpio y totalmente seco, para la segunda lectura se llenó el picnómetro con agua destilada, con la finalidad de que al momento de colocar la tapa no se produzca la formación de burbujas, acto seguido se procedió nuevamente a pesar, lavar y secar. Para la última lectura se repitió el proceso con el extracto fluido.

Para el control de temperatura se utilizó un termómetro de mercurio colocado en el área de trabajo ya que éste no se encontraba acoplado al picnómetro, la temperatura que se mantuvo durante todo el proceso fue de 25°C con mínimas variantes de la misma. Para la determinación de este ensayo se utiliza la siguiente fórmula.

$$D = \frac{M1 - M}{M2 - M}$$

M1: peso del picnómetro con extracto en gramos

M2: peso del picnómetro con el agua destilada en gramos

M: peso el picnómetro vacío en gramos

#### **2.6.1.4 Sólidos totales**

Antes de iniciar con el procedimiento se tomaron en cuenta las condiciones de los materiales y equipos a usarse es decir debían estar limpios y sin residuos de ningún otro material, de no ser así podrían cambiar los datos de todo el ensayo, en primera instancia se colocó un crisol limpio y vacío en una estufa a una temperatura de 105°C permaneciendo por un lapso de 60 minutos, inmediatamente el mismo crisol vacío se trasladó a un desecador con la ayuda de una pinzas para crisol, en donde permaneció durante 60 minutos más, pasada la media hora se trasladó a la balanza analítica para registrar los datos; con el uso del mismo crisol se colocaron 5 ml de extracto fluido

en el mismo para luego pasar nuevamente a la estufa permaneciendo durante 3 horas a la misma temperatura mencionada previamente, consecutivamente se colocó en el desecador para luego trasladar a la balanza y recolectar los datos, el procedimiento se realizó por triplicado tanto para extracto al 25% como al de 50%. A continuación se establece una fórmula para determinar la densidad relativa de una solución.

$$ST = \frac{Pr - P}{V} * 100$$

Pr= peso del crisol con residuo.

P= peso del crisol vacío.

V= volumen de la porción de ensayo

100=factor matemático.

## **2.6.2 Tamizaje fitoquímico del extracto fluido**

Se realizaron una serie de ensayos cualitativos para determinar el contenido de las sustancias químicas que contiene la droga vegetal en el extracto fluido.

### **2.6.2.1 Ensayo de Dragendorff**

Este ensayo permite determinar la presencia de alcaloides en un extracto alcohólico, para lo cual se evaporó todo el alcohol contenido en una alícuota de 2 ml en un mechero Bunsen del extracto de ambas concentraciones tanto de 25% y 50% por separado respectivamente hasta quedar únicamente la droga, también; el residuo de la droga se debe disolver en 1 ml de ácido clorhídrico en una concentración del 1 %, éste último disuelto en agua destilada, seguidamente se añaden 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera positivo con presencia de alcaloides (Martínez M., Valencia P., Jimenez U., Mesa, & Galeano J, 2008, págs. 88-90).

Para la preparación del reactivo de Dragendorff se mezclaron 21,3 ml de ácido nítrico con la cantidad suficiente de agua destilada para completar 62 ml. Seguidamente se tomaron 20 ml de esta solución y se disolvieron en 5 g de subnitrito de bismuto y por separado se disolvieron 31,2 g de yoduro de potasio en 69 ml de agua. Finalmente se mezclaron ambas soluciones (Migdalia, 2002, págs. 43-48).

#### **2.6.2.2 Ensayo de Mayer**

Al extracto que se encuentra como extracto alcohólico, se eliminó el solvente y se redisolvió con agua, para posteriormente añadir a la solución el reactivo de Mayer, se produce un ensayo positivo cuando comienza a aparecer un precipitado (Corado, 2013). Para obtener la solución reactiva de Mayer se tomaron 1,3 g de cloruro mercúrico y se disolvieron en 60 ml de agua destilada, la segunda parte consiste en disolver 5 g de yoduro de potasio en 20 ml de agua destilada, se mezclan ambas soluciones y se enrasa a 100 ml con agua (Arango Acosta, 2002, pág. 6).

#### **2.6.2.3 Ensayo de Wagner**

Es necesario eliminar el solvente alcohólico del extracto, con una fuente de calor, y redissolver en agua destilada; se añadieron 3 gotas de reactivo de Wagner, al producirse la reacción se observa la formación de un precipitado (Bucay, 2009, pág. 38).

La elaboración de la solución reactiva de Wagner comprende inicialmente con la disolución de 2 g tanto de yodo como de yoduro de potasio en una parte de agua destilada, para posteriormente aforar a 100 ml con agua destilada.

#### **2.6.2.4 Ensayo de Baljet**

Para la preparación de reactivo de Baljet se realizaron dos soluciones la primera comprende hidróxido de sodio al 10 % en agua destilada y la segunda solución es la mezcla de ácido pícrico al 1% en etanol dichas soluciones se combinaron en iguales volúmenes previo a su uso, el proceso permitirá evaluar la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, específicamente cumarinas, sin embargo existen más compuestos de origen lactónico que pueden dar positivo al ensayo, para lo cual se procedió a agregar 100µl de la muestra de extracto seguido de 4 gotas del reactivo, considerándose un ensayo positivo si presenta una coloración o precipitado naranja o rojo oscuro (Cirilo Aguilar, 2003, pág. 51–54).

#### **2.6.2.5 Ensayo de Borntrager**

Este ensayo reconoce en un extracto alcohólico la presencia de quinonas, para lo cual se evaporó una alícuota del extracto y el residuo se disolvió en 1 ml de cloroformo, después se adicionó 1 ml de hidróxido de sodio al 5 % en agua destilada, se agitó suavemente para que puedan mezclarse las dos fases para posterior dejar en reposo hasta su respectiva separación, en el caso de obtener una coloración rosada o roja en la fase superior (acuosa alcalina) se considera que entre sus compuestos se encuentran quinonas (Migdalia, 2002, págs. 43-48).

#### **2.6.2.6 Ensayo de Liebermann-Burchard**

Determina la presencia de triterpenos y/o esteroides inicialmente como en anteriores ensayos se evaporó el alcohol de la muestra y el residuo vegetal se disolvió en 1 ml de cloroformo e inmediatamente se adicionó 1 ml de anhídrido acético, de una manera cuidadosa se colocaron 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado por la pared del tubo de ensayo sin agitar, el ensayo será positivo si existe un cambio fulminante

de coloración, ya que puede tornarse de un color azul, verde intenso o verde muy oscuro (Migdalia, 2002, págs. 43-48). Cuando la coloración se torna muy oscura generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos (Hinojosa Dávalos, y otros, 2012, págs. 54-55). No debe existir ni una sola gota de agua en la reacción con el ácido sulfúrico ya que puede desencadenarse una reacción violenta.

#### **2.6.2.7 Ensayo de Catequinas**

Se tomó una gota del extracto alcohólico con el uso de un capilar o gotero, se aplicó la muestra sobre un pequeño trozo de papel filtro, de manera inmediata en el mismo sitio de la muestra se añadieron 2 gotas de una solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), y en presencia de luz UV mediante el uso de una cámara si la muestra presenta una mancha de color verde es indicativo de un ensayo positivo (Bonilla Ríos, Varón, & Garzón, 2014, pág. 38).

#### **2.6.2.8 Ensayo de resinas**

Para la determinación de resinas en extracto alcohólico se tomó una muestra del extracto y se adicionó 10 ml de agua destilada percatándose de que exista una buena homogenización; transcurridos de 5 a 10 minutos, si hay la presencia un precipitado en el fondo del tubo demuestra que el ensayo es positivo (Caldas, 2012, pág. 32).

#### **2.6.2.9 Ensayo de Fehling**

Al obtener un extracto alcohólico no disuelto en agua, inicialmente se evaporó el solvente mediante calor y su residuo se redisolvió en agua destilada, se añadió a la solución 2 ml del reactivo de Fehling A y 2 ml de Fehling B y se sometió a temperatura moderada ( $40^\circ\text{C}$ ) mediante baño María. Si se observa una coloración

rojiza o a su vez precipitado rojo es señal de que contiene azúcares reductores (Abrego, 2007, pág. 70).

#### **2.6.2.10 Ensayo de espuma**

La presencia de espuma un compuesto significa que existe la presencia de saponinas, ya sea tanto del tipo esterooidal como triterpénica, para ello al extracto alcohólico se realizó una dilución con 5 veces su volumen de agua destilada y seguidamente se agitó la mezcla fuertemente durante 5 minutos. El ensayo es positivo cuando aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y permanece en ese estado por más de 2 minutos (Hinojosa Dávalos, y otros, 2012, págs. 54-55).

#### **2.6.2.11 Ensayo del cloruro férrico**

Para poder conocer si existe la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal, se tomaron 3 gotas de cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) al 5 % en solución salina mediante la ayuda de un gotero y se colocaron en una alícuota de la muestra de extracto alcohólico. Si el material vegetal contiene en su estructura compuestos fenólicos presentará una coloración rojo-vino, no obstante si se torna de una coloración verde intensa se considera que hay presencia de taninos del tipo pirocatecólicos y si se torna azulado existe presencia de taninos pirogalotánicos respectivamente (Migdalia, 2002, págs. 43-48).

#### **2.6.2.12 Ensayo de la Ninhidrina**

Para el presente ensayo se tomó una alícuota del extracto alcohólico de aproximadamente 2 ml para posteriormente añadir 2ml del reactivo de ninhidrina, una vez mezcladas ambas soluciones se calentó en un baño María por un lapso de 10

minutos, si se obtiene una coloración violácea significa que existe la presencia de aminoácidos en el material vegetal (Donnersberger, 2002, pág. 385).

#### **2.6.2.13      Ensayo de Shinoda**

Para detectar la presencia de flavonoides en un extracto vegetal alcohólico, primero se obtuvo una alícuota del extracto el cual se diluyó con 1 ml de ácido clorhídrico (HCl) concentrado y sobre éste se añadió un trozo pequeño de cinta de magnesio metálico, al mezclarse se produjo una reacción exotérmica por lo cual se dejó en reposo durante 5 minutos, terminado este período de tiempo se colocó 1 ml de alcohol amílico ( $C_5H_{12}O$ ), para poder observar la separación de fases se dejó en reposo por un instante hasta que culmine la reacción, una vez concluida la reacción si el alcohol amílico adquiere un color naranja, amarillo o rojo, el ensayo se considera positivo (Martínez M., Valencia P., Jimenez U., Mesa, & Galeano J, 2008, págs. 88-90).

#### **2.6.2.14      Ensayo de Kedde**

El ensayo reconoce en un extracto alcohólico la presencia de glicósidos cardiotónicos el ensayo partió de una alícuota del extracto al cual se le agregó 1 ml del reactivo Kedde y se dejó en reposo de 5 a 10 minutos, una vez concluido el tiempo de reposo si la mezcla desarrolla una coloración violeta se considera un ensayo positivo misma que persiste durante aproximadamente 2 horas, Las soluciones deben estar separadas y en el momento preciso que se vaya a realizar el ensayo se mezclan (Martínez Martínez, 2001, pág. 15).



### **2.6.2.15 Ensayo de Antocianidinas**

Para reconocer la presencia de flavonoides en el extracto alcohólico se calentaron 2 ml del extracto alcohólico por un período de 10 minutos junto con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado, concluidos los 10 minutos se dejó que se enfríe para posteriormente adicionar 1 ml de agua destilada junto con 2 ml de alcohol amílico, se agitó homogéneamente la mezcla y se dejó separar ambas fases, si el extracto vegetal contiene flavonoides, éste tiende a tornarse de color rojo o marrón (Migdalia, 2002, págs. 43-48).

En todos los ensayos realizados se tomó una alícuota de 2 ml, efectuando el proceso por duplicado ya que son dos concentraciones tanto de 25 como de 50%.

## **2.7 Evaluación de la actividad antimicótica**

Para la presente investigación se utilizaron cuatro cepas ATCC distintas: *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Microsporum canis* ATCC 36299 y *Candida albicans* ATCC 10231. Previo al proceso de activación de las cepas se prepararon dos tipos de medios de cultivo, medio semisólido Sabouraud Dextrose Agar (SDA) y medio líquido Tryptic Soy Broth (TSB).

### **2.7.1 Activación de cepas fúngicas**

En condiciones estériles, se retiró la envoltura de las cepas, y se extrajo de la misma el tubo que contiene la cepa liofilizada, se presionó la parte superior de la ampolla de tal manera que se fragmentó la envoltura para que pueda ser liberado el líquido de hidratación, el cual descendió hasta la pastilla, y pasó a mezclarse hasta empapar al hisopo. Seguido de este proceso se extrajo el hisopo conteniendo a la cepa fúngica

ATCC hidratada e inmediatamente se procedió a realizar la siembra respectiva en medio SDA, la siembra se realizó mediante una técnica de plateado, de modo que el inóculo abarque toda el área del agar, cada hisopo rinde hasta 4 cajas madre. El hisopo no se debe desechar ya que puede aún contener rezagos de microorganismo por lo cual se depositó en un tubo con medio TSB y junto con las cajas ya sembradas se trasladó a incubación. La incubación se realizó a una temperatura de 26°C. La vida útil que pueden tener esta cepas liofilizadas KWIK – STIK™ es aproximadamente de 10 a 24 meses, pero teniendo en cuenta que se deben mantener en refrigeración (MicroBioLogics, 2011).

Para el proceso de activación de las cepas a partir de perlas conservadas, se parte de la misma manera que el procedimiento anterior, únicamente difiere su conservación ya que estas cepas se encontraban congeladas, para lo cual mediante el uso de agujas estériles se tomó una perla, la cual se frota de la misma manera que el anterior proceso sembrando de manera circular hasta completar toda la caja y trasladar a incubación en las mismas condiciones aerobias a una temperatura de 26°C.

### **2.7.2 Preparación del inóculo**

Teniendo en cuenta que los hongos con los cuales se trabajó son tanto unicelulares (*Candida albicans*) como filamentosos (*Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* y *Trichophyton mentagrophytes*) parten dos metodologías distintas.

### **2.7.3 Conteo de hongos filamentosos**

Una vez alcanzada la cantidad de biomasa de aproximadamente 2 g por caja, con una aguja estéril se tomó generosamente la biomasa y se colocó en un tubo de ensayo con agua destilada estéril, el volumen de agua destilada va a depender de la cantidad de

medio preparado para cada hongo filamentoso, conteniendo la cantidad suficiente de microorganismo en el tubo se trasladó al vórtex, en el cual permaneció 10 minutos aproximadamente, mientras tanto se realizó una limpieza minuciosa de la cámara de Neubauer con alcohol y posteriormente se secó y se ubicó el cubreobjetos sobre el mismo, mediante el uso de una micropipeta automática se procedió a colocar 10 µl de suspensión de las esporas en la cámara, seguidamente se observa al microscopio utilizando un aumento de 40x, una vez enfocadas las esporas se inició el conteo de las mismas teniendo en cuenta la ubicación de los cuadrantes principales que la cámara contiene, de tal manera que se contaron únicamente los cuadrados de los cuatro ángulos y del centro, pero también se contaron las esporas que tocaban la primera de las cuatro líneas que circundan el cuadrado, el conteo se realizó en diez cuadrados, distribuidos cinco arriba y cinco abajo (Cañedo & Ames, 2004, págs. 41–42).

### **Cantidad de esporas por mililitro**

$$\frac{\text{Esporas}}{\text{ml}} = \text{número de esporas contadas} \times 100000 \times \text{factor de dilución}$$

Teniendo en cuenta:

Número de esporas contadas: número de esporas cuantificadas en los cinco cuadrados de la cámara de Neubauer.

Factor de dilución: agua destilada

100000: volumen de la cámara de Neubauer expresado en 1ml, se considera el área por la profundidad.

## Número total de esporas

$$\text{esporas totales} = \frac{\text{esporas}}{\text{ml}} \times V_{\text{suspensión}}$$

V. suspensión: representa el volumen inicial de suspensión de las esporas

### 2.7.4 Conteo de células: Espectrofotómetro

El procedimiento se aplicó únicamente con *Candida albicans* para lo cual se realizó un proceso previo de siembra; de una caja madre se tomó una cantidad suficiente de biomasa de *Candida albicans*, se realizó una resiembra en una caja con medio SDA, esta levadura tiene un crecimiento muy acelerado y mucho más si se encuentra en condiciones propicias, esto es: temperatura óptima de 25°C, con una humedad del 90% y un pH ácido entre 4 y 5, es por esto que pasadas 24 horas se obtuvo una cantidad suficiente de levadura, el siguiente procedimiento se realizó con el uso de un asa, recolectando la cantidad suficiente de levadura se trasladó a medio TSB, la técnica menciona que se debe colocar en incubación durante 18 horas en condiciones aerobias con una temperatura de 25°C (Técnica Overnigth), pasadas las 18 horas se observa un precipitado de la levadura en el fondo del tubo con medio TSB, se realizó un proceso de centrifugado a 2000 rpm para evitar la pérdida de células microbianas; en condiciones estériles se desecha el sobrenadante tratando de que no se pierda el precipitado con la levadura, se llenó en el mismo tubo cierta cantidad de suero fisiológico estéril para posteriormente pasar al vórtex, luego de tener un inóculo muy concentrado (turbio) se trasladó nuevamente a otro tubo más grande que contenía suero fisiológico estéril y se colocó al vórtex, el inóculo ya homogenizado se ubicó en una celda para espectrofotómetro para después colocar en el mismo. La lectura se realizó hasta llegar a la absorbancia requerida (0,20) a una longitud de onda de 655

nm lo cual representa una concentración de inóculo de  $1 \times 10^8$  hasta llegar a los valores de absorbancia deseados (Mosquera & Veloz Vera, 2011, pág. 33).

### **2.7.5 Método de siembra**

Inicialmente se realiza la preparación del inóculo en función a la cantidad de cajas que se va a sembrar, realizando un raspado del hongo y mezclándolo con agua destilada estéril. Para el proceso de siembra se coloca 1ml de inóculo del hongo en cajas petri estériles desechables, después se añade 19 – 24 ml de medio de cultivo SDA estéril, llevado a una temperatura de entre 28 – 47°C, esta temperatura garantizará su crecimiento en el medio de cultivo. Este procedimiento permite que el hongo colocado en el inóculo crezca de manera homogénea en la caja petri (Vandevenne, 1997, pág. 60). Sin embargo al momento de realizar la siembra se modificó la técnica, lo que se hizo fue añadir el inóculo completo en el frasco Boeco con el medio de cultivo (SDA), a una temperatura de 50°C aproximadamente, y se dispensó en cajas petri vacías y estériles.

### **2.7.6 Siembra en placa por estriado *Candida albicans***

Se colocaron 25ml de medio de cultivo (SDA) estéril en cajas petri elaboradas de un material desechable y estériles, se dejó gelificar, con la parte superior de la caja petri abierta, para evitar la condensación del vapor. Con ayuda de la micropipeta se añadieron 1000µl en cada caja, con un hisopo previamente esterilizado y pesado se realizó un estriado homogéneamente cubriendo toda la caja (Guadix, 2006, pág. 290).

### **2.7.7 Método Kirby – Bauer**

Una vez inoculada la cepa ATCC de *Candida albicans* en el medio de cultivo se colocaron 4 discos en forma de cruz, en dos de ellos se colocaron 8µl de las diferentes diluciones del extracto una frente a la otra y en el otro disco se colocó DMSO considerado como un control negativo, y finalmente como control positivo se utilizó un disco que contenía el antibiótico comercial que es Fluconazol (Ruiz, 2005, pág. 119). Se dejó en incubación de 24 a 48 horas a una temperatura de 25°C. El procedimiento se realizó por quintuplicado y la lectura se inició a las 24 horas a razón de que *Candida albicans* tiene características de desarrollo similares a las bacterias y su fase exponencial es muy corta llegando al punto más alto de su crecimiento entre las 24 y 48 horas.

### **2.7.8 Método modificado de Kirby – Bauer en pozos de agar**

El método inicia con el agar ya gelificado, una variante al método empleado con Kirby Bauer el cual consiste en realizar pozos o pocillos usando la punta libre de una pipeta Pasteur en donde se colocaron 50µl de las concentraciones de las diluciones de los extractos, también se colocó el control positivo Clotrimazol a una concentración del 1% y el control negativo alcohol al 90%. Se llevó a incubación a una temperatura de 25°C de 5 a 10 días (Toribio M. , 2007, pág. 47). El procedimiento se realizó por quintuplicado y la lectura se inició desde las 72 horas con un calibrador digital.

## **2.8 Análisis estadístico de varianza de una vía**

El análisis de varianza comúnmente conocida como Anova, se trata de un método que permite contrastar medias de dos o más grupos planteados, esto busca detectar

diferencias entre las dos. Se fundamenta básicamente en el estudio de las varianzas (Yanez P. , 2010, págs. 58 - 60).

Software empleado

- Programa Statistix 10.0 General ONE WAY AOV.

## Resultados y discusión

### 3.1 Rendimiento del extracto blando de la mosquera (*Croton elegans*)

De acuerdo a la ecuación para la determinación del rendimiento se obtuvo un porcentaje final de 3,19%.

### 3.2 Control de calidad

#### 3.2.1 Análisis organoléptico

Tabla 3.

Análisis organoléptico

Parámetros	Descripción
Color	Verde oscuro
Olor	Resinoso
Textura	Blanda
Apariencia	Adherente

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015



### 3.3 Tamizaje Fitoquímico

Tabla 4.

Resultados de tamizaje fitoquímico

Ensayos	Metabolitos secundarios	Concentración de extracto fluido al 25%	Concentración de extracto fluido al 50%
<b>Catequinas</b>	Catequinas	+	+
<b>Resinas</b>	Resinas	+	+
<b>Fehling</b>	Azúcares reductores	-	+
<b>Baljet</b>	Lactonas	+	+
<b>Espuma</b>	Saponinas	-	-
<b>Cloruro férrico</b>	Fenoles y taninos	-	-
<b>Ninhidrina</b>	Aminoácidos	-	-
<b>Borntrager</b>	Quinonas	+	+
<b>Shinoda</b>	Flavonoides	+	+
<b>Kedde</b>	Cardenolidos	-	-
<b>Antocianidina</b>	Antocianidinas	-	-
<b>Dragendorff</b>	Alcaloides	+	+
<b>Mayer</b>	Alcaloides	+	+
<b>Wagner</b>	Alcaloides	+	+
<b>Lieberman-Buchard</b>	Triterpenos /Esteroides	+	+

Nota: ver Anexo 1-15; Elaborado por Guayasamin E., 2015

Durante el desarrollo de la investigación se pudo determinar que de los quince ensayos realizados nueve de ellos tuvieron resultados positivos en el caso del extracto fluido al 25%, sin embargo los ensayos positivos de la concentración al 50% son mayores ya que se obtuvieron diez ensayos positivos, existiendo similitud con otras investigaciones realizadas en donde se estudiaron 14 especies del género *Croton*, de las cuales destacan ocho endémicas, los metabolitos que se encontraron en mayor concentración fueron los triterpenos/esteroles como principal compuesto encontrado en el género, seguido de alcaloides, saponinas, aminos, proantocianidinas, flavonoides y quinonas, estos últimos se encontraron en menor concentración en algunas especies (Payo Hill, Dominicis, Mayor, Oquendo, &

Sarduy, 2001, págs. 203-204), en la mayoría de las especies del género *Croton* son frecuentes los flavonoides, terpenos y alcaloides.

### 3.4 Análisis físico químico

#### 3.4.1 Sólidos totales

Tabla 5.

Sólidos totales de extracto fluido al 25% y 50%

	Concentración 25%		Concentración 50%	
	Crisol vacío (g)	crisol con extracto (g)	Crisol vacío (g)	crisol con extracto (g)
repetición 1	19,4784	19,7104	21,7268	21,9789
repetición 2	19,4783	19,7105	21,7267	21,9791
repetición 3	19,4783	19,7104	21,7267	21,9791
Promedio	19,4783	19,7104	21,7267	21,979

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

Sólidos totales al 25% = 4,642%

Sólidos totales al 50% = 5,046%

Teniendo en cuenta que los sólidos totales abarcan la suma de todos los sólidos suspendidos, sales disueltas, materia orgánica y cierta cantidad de metales y en base a un estudio realizado con extracto fluido de *Croton argenteus L.* que es una especie perteneciente al mismo género y familia de la planta usada en la presente investigación, se demostró que contiene un total de 7,28% de sólidos totales a una concentración del extracto fluido del 30% (Morón Rodríguez, Victoria Amador, Morejón Rodríguez, Martínez Guerra, López Barreiro, & Fuentes Fiallo, 2006), en tanto que *Croton elegans* contiene valores de 4,642% y 5,046% en concentraciones de 25 y 50% respectivamente, lo que nos demuestra que existe una coherencia en los resultados y aproximadamente la misma cantidad de materia sólida en el extracto.

### 3.4.2 Densidad relativa

Tabla 6.

Densidad relativa del extracto fluido a una concentración del 25% y 50%

<b>Concentración 25%</b>			
Medición	Picnómetro vacío (g)	Picnómetro con agua destilada (g)	Picnómetro con extracto fluido (g)
repetición 1	12,7876	23,2424	21,5216
repetición 2	12,7878	23,2421	21,5132
repetición 3	12,7879	23,2423	21,5147
Promedio	12,7878	23,2423	21,5165

<b>Concentración 50%</b>			
Medición	Picnómetro vacío (g)	Picnómetro con agua destilada (g)	Picnómetro con extracto fluido (g)
repetición 1	12,7880	23,2426	21,5219
repetición 2	12,7883	23,2428	21,5135
repetición 3	12,7901	23,2431	21,5139
Promedio	12,7888	23,2428	21,5164

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

De acuerdo con la ecuación usada para la determinación de densidad relativa se obtuvieron:

Densidad relativa del extracto fluido a una concentración del 25% = 0,8349

Densidad relativa del extracto fluido a una concentración del 50% = 0,8348

La densidad es una de las características físicas que define a una sustancia, por lo tanto los valores que se obtuvieron son específicos de la planta estudiada.

### 3.4.3 Índice de refracción y concentración de azúcares

Tabla 7.

Índice de refracción y grados Brix del extracto fluido al 25% y 50%

Índice de refracción			Grados Brix		
Concentración	25%	50%		25%	50%
<b>repetición 1</b>	1,366	1,369	<b>repetición 1</b>	21,50	23,00
<b>repetición 2</b>	1,366	1,369	<b>repetición 2</b>	21,50	23,00
<b>repetición 3</b>	1,366	1,369	<b>repetición 3</b>	21,50	23,00
<b>Promedio</b>	1,366	1,369	<b>Promedio</b>	21,50	23,00

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

Los valores obtenidos se asemejan a investigaciones realizadas previamente como se menciona en un estudio realizado sobre la evaluación preclínica de efectos farmacológicos de interés sobre ratones, utilizando extracto fluido de *Croton argenteus L.* y se obtuvieron resultados parcialmente similares al presente estudio puesto que el valor obtenido del índice de refracción fue de 1,3574 (Morón Rodríguez, Victoria Amador, Morejón Rodríguez, Martínez Guerra, López Barreiro, & Fuentes Fiallo, 2006), mientras que *Croton elegans* para ambas concentraciones de los extractos tienen un valor de 1,366 para el extracto fluido al 25% y 1,369 para el extracto fluido al 50%, por lo cual se tienen ciertas semejanzas entre las especies del género *Croton*. Los valores obtenidos de azúcares disueltos en la presente investigación fueron de 21,5% y 23% para 25% y 50% respectivamente.

### 3.4.4 Determinación de pH

Tabla 8.

Determinación de pH del extracto fluido

	Concentración de extracto fluido 25%	Concentración de extracto fluido 50%
<b>repetición 1</b>	6,22	5,65
<b>repetición 2</b>	6,00	5,70
<b>repetición 3</b>	6,25	5,69
<b>promedio</b>	6,16	5,68

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

Los distintos valores obtenidos difieren respecto a la concentración de los extractos, sin embargo ambas concentraciones tienden a ser ligeramente ácidas, en el caso del extracto con una concentración del 50% se aleja más del punto neutro adquiriendo un valor de 5,68, los metabolitos secundarios que dieron positivo en el tamizaje fitoquímico pueden estar relacionados estrechamente con los valores de pH obtenidos ya que para la concentración del 50% se obtuvieron más ensayos positivos, en tanto que el extracto al 25% se acerca más al punto neutro por la misma razón, los componentes en su estructura alteran significativamente el pH.

### **3.5 Evaluación de la actividad antimicótica**

Los resultados obtenidos de los microorganismos utilizados se determinaron mediante los halos de inhibición observados en las placas, teniendo en cuenta que se realizaron cinco repeticiones por cada cepa fúngica, de los cuales deriva un blanco positivo, que es el producto comercial fluconazol para levaduras y clotrimazol al 1% para hongos filamentosos, un control negativo para el extracto fluido que se usó fue alcohol al 90%, y finalmente las respectivas concentraciones de los extractos tanto blando como fluido.

### 3.5.1 Halos de inhibición frente a *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

Tabla 9.

Halos de inhibición de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 frente al extracto fluido del 25% y 50% (Anexo 17)

25%		50%	
Repetición	Halos (mm)	Repeticiones	Halos (mm)
CAJA 1	11,85	CAJA 1	12,90
CAJA 2	11,00	CAJA 2	13,25
CAJA 3	11,45	CAJA 3	14,80
CAJA 4	11,90	CAJA 4	14,35
CAJA 5	12,35	CAJA 5	13,30

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

Tabla 10.

Halos de inhibición de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 frente al control positivo (Clotrimazol)

Medición 1 (mm)	Medición 2 (mm)	Promedio (mm)
37,60	37,20	37,40
33,10	32,20	32,65
38,00	38,60	38,30
34,29	36,20	35,20
34,40	35,70	35,05

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

### 3.5.2 Halos de inhibición frente a *Microsporum canis* ATCC 36299

Tabla 11.

Halos de inhibición de *Microsporum canis* ATCC 36299 frente al extracto fluido de 25% y 50% (Anexo 18)

Repeticiones	Halos (mm)	Repeticiones	Halos (mm)
CAJA 1	7,85	CAJA 1	16,35
CAJA 2	8,60	CAJA 2	12,45
CAJA 3	10,75	CAJA 3	14,70
CAJA 4	12,35	CAJA 4	8,65
CAJA 5	8,30	CAJA 5	14,00

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

Tabla 12.

Halos de inhibición de *Microsporum canis* ATCC 36299 frente al control positivo (Clotrimazol)

Medición 1	Medición 2 (mm)	Promedio (mm)
33,90	35,40	34,65
27,70	27,40	27,55
31,50	30,10	30,80
34,70	35,60	35,15
34,60	37,70	36,15

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

### 3.5.3 Halos de inhibición frente a *Candida albicans* ATCC 10231

Tabla 13.

Halos de inhibición de *Candida albicans* ATCC 10231 frente al extracto fluido de 25% y 50% (Anexo 16)

25%		50%	
Repeticiones	Halos (mm)	Repeticiones	Halos (mm)
CAJA 1	6,0	CAJA 1	6,2
CAJA 2	6,2	CAJA 2	6,0
CAJA 3	6,2	CAJA 3	6,3
CAJA 4	6,1	CAJA 4	6,0
CAJA 5	6,0	CAJA 5	6,1

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

Tabla 14.

Halos de inhibición de *Candida albicans* ATCC 10231 frente al control positivo (Clotrimazol)

Medición 1 (mm)	Medición 2 (mm)	Promedio (mm)
28,50	30,10	29,30
25,40	28,90	27,15
26,70	30,20	28,45
29,50	30,00	30,00
31,10	29,70	30,40

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

### 3.5.4 Halos de inhibición frente a *Trichophyton mentagrophytes* ATCC

9533

Tabla 15.

Halos de inhibición de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 frente al extracto fluido de 25% y 50% (Anexo 19)

25%		50%	
Repeticiones	Halos (mm)	Repeticiones	Halos (mm)
CAJA 1	8,60	CAJA 1	10,10
CAJA 2	8,60	CAJA 2	12,50
CAJA 3	9,30	CAJA 3	13,45
CAJA 4	9,30	CAJA 4	10,05
CAJA 5	8,60	CAJA 5	13,55

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

Tabla 16.

Halos de inhibición de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 frente al control positivo (Clotrimazol)

Medición 1(mm)	Medición 2(mm)	Promedio (mm)
49,30	43,00	10,00
47,20	47,00	10,90
51,10	48,80	13,40
53,30	49,30	51,30
47,80	46,70	47,25

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

Las tablas representan los valores promedios finales de cada grupo de datos de halos inhibitorios en función con la concentración del extracto fluido que en el presente caso determinado por 25 y 50%, se tomó en cuenta de la misma manera el diámetro de inhibición del control positivo, sin embargo no se colocó el valor del control negativo que en el presente caso es alcohol al 90%, el cual no presentó valor inhibitorio alguno.



### 3.6 Inhibición relativa

Al usar el programa estadístico se tomó en cuenta que a los valores inhibitorios obtenidos se les debe calcular un porcentaje de inhibición relativa correspondiente a cada cepa utilizada por lo que los resultados calculados obtuvieron los siguientes valores:

Tabla 17.

Halos de inhibición: porcentaje de inhibición relativa

Concentraciones	Halos de inhibición relativa (mm)			
	25%	50%	Clotrimazol (+)	Alcohol (-)
<i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188	32,78	38,41	35,72	6,00
<i>Microsporum canis</i> ATCC 36299	29,12	40,26	32,86	6,00
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	20,99	20,99	29,06	6,00
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	33,42	44,90	26,57	6,00

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

Los valores calculados demuestran que no todas las cepas tienen la misma sensibilidad al extracto, siendo la menos resistente *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, seguido de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 continuando con *Microsporum canis* ATCC 36299 y finalmente *Candida albicans* ATCC 10231 que tiene una mayor resistencia al extracto. Al realizar la comparación con los halos del producto comercial se establece una diferencia poco significativa en cuanto a su eficacia, lo que confirma que su acción es igual de efectiva que un medicamento comercial.

### 3.7 Análisis estadístico: Varianza de una vía (ANOVA)

#### 3.7.1 *Croton elegans* frente a *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

Tabla 18.

Análisis de varianza para *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

ANOVA una vía para : Extracto 25%, Extracto 50%					
Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor significativo	Valor p
Entre muestras	1	10.1002	10.1002	22.0	0.0016
Dentro de muestras	8	3.6700	0.4587		
Total	9	13.7702			
Media general		12.715			
Coeficiente de variación		5.33			

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

#### 3.7.2 *Croton elegans* frente a *Microsporium canis* ATCC 36299

Tabla 19.

Análisis de varianza para *Microsporium canis* ATCC 36299

ANOVA una vía para : Extracto 25%, Extracto 50%					
Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor significativo	Valor p
Entre muestras	1	33.4890	33.4890	5.50	0.0470
Dentro de muestras	8	48.7060	6.0883		
Total	9	82.1950			
Media general		11.400			
Coeficiente de variación		21.64			

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

### 3.7.3 *Croton elegans* frente a *Candida albicans* ATCC 10231

Tabla 20.

Análisis de varianza para *Candida albicans* ATCC 10231

ANOVA una vía para : Extracto 25%, Extracto 50%					
Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor significativo	Valor p
Entre muestras	1	0.00100	0.00100	0.07	0.7924
Dentro de muestras	8	0.10800	0.01350		
Total	9	0.10900			
Media general		6.1100			
Coeficiente de variación		1.90			

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

### 3.7.4 *Croton elegans* frente a *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533

Tabla 21.

Análisis de varianza para *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533

ANOVA una vía para : Extracto 25%, Extracto 50%					
Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor significativo	Valor p
Entre muestras	1	23.2562	23.2562	14.6	0.0051
Dentro de muestras	8	12.7310	1.5914		
Total	9	35.9872			
Media general		10.405			
Coeficiente de variación		12.12			

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

El estudio estadístico establece la relación existente entre las concentraciones aplicadas a cada cepa fúngica y el grado de inhibición de dicho extracto para cada microorganismo, por lo que el programa utilizado arrojó variados datos, y de ellos se obtuvo que la cepa fúngica *Candida albicans* ATCC 10231 no presenta actividad relevante puesto que su valor probabilístico de p es mayor a 0,05 ( $\alpha=0,05$ ), y

mediante las hipótesis planteadas se estableció finalmente la hipótesis nula (H<sub>0</sub>) la cual menciona que el extracto de la planta mosquera (*Croton elegans*) no presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231, sin embargo las demás cepas obtuvieron un valor de p mucho menor al probabilístico lo que demuestra que el extracto presenta actividad antimicótica, es decir se aplica la Hipótesis alternativa que indica que sí existe una actividad antimicótica en la planta para microorganismos fúngicos filamentosos, de este modo es necesario el uso del análisis estadístico de Tukey puesto que los valores consignados representan valores menores a 0,05, por el contrario un estudio realizado con *Croton abutiloides* frente a *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* no reportó potencial antimicótico alguno, se utilizaron varios solventes extractivos en la investigación con *Croton abutiloides* siendo éstos compuestos orgánicos: hexano, acetato de etilo y metanol, mucho tienen que ver los solventes utilizados para los extractos ya que pueden bloquear la actividad antimicótica y alterar los resultados (Quituisaca Carrillo, 2015, págs. 52-54).

### 3.7.5 Análisis probabilístico Tukey para *Trichophyton rubrum* ATCC

**28188**

Tabla 22.

Análisis de Tukey para *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

Pruebas de comparación por parejas			
Variable	Media	Grupos homogéneos	
Extracto 50%	13.720	A	
Extracto 25%	11.710	B	
Alfa	0.05	Error estándar	0.4284
Valor crítico Q	3.263	Valor crítico	0.9882

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

### 3.7.6 Análisis probabilístico Tukey para *Microsporum canis* ATCC

36299

Tabla 23.

Análisis de Tukey para *Microsporum canis* ATCC 36299

Pruebas de comparación por parejas			
Variable	Media	Grupos homogéneos	
Extracto 50%	95.700	A	
Extracto 25%	13.230	B	
Alfa	0.05	Error estándar	15.605
Valor crítico Q	3.263	Valor crítico	36.002

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

### 3.7.7 Análisis probabilístico Tukey para *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533

Tabla 24.

Análisis de Tukey para *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533

Pruebas de comparación por parejas			
Variable	Media	Grupos homogéneos	
Extracto 50%	88.800	A	
Extracto 25%	11.930	B	
Alfa	0.05	Error estándar	0.7978
Valor crítico Q	3.263	Valor crítico	18.406

Nota: Elaborado por Guayasamin E., 2015

La prueba estadística Tukey estableció que ambas concentraciones son significativamente diferentes para cada cepa fúngica, lo que demuestra que la concentración requerida para inhibir a los microorganismos es del 50%, sin embargo el extracto a una concentración del 25% logra también inhibición sobre las cepas, pero la opción más acertada para controlar un proceso fúngico sería un extracto fluido concentrado.

## Conclusiones

La etnobotánica del Ecuador congrega a numerosas especies vegetales, que en su gran mayoría no han sido investigadas ni descritas taxonómicamente y que tienen numerosas propiedades medicinales; el presente estudio demuestra que *Croton elegans* tiene actividad antimicótica sobre los hongos filamentosos utilizados en la presente investigación (*Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Microsporum canis* ATCC 36299 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188), y por el contrario no tiene la capacidad inhibitoria para levaduras como *Candida albicans* ATCC 10231.

Mediante el extracto obtenido en ambas concentraciones (25% y 50%), se demostró la existencia de más principios activos presentes a una mayor concentración (50%), mientras que para una concentración más diluida se reduce la presencia de los mismos, los ensayos positivos que tuvieron en común ambas concentraciones fueron: catequinas, resinas, lactonas, quinonas, flavonoides, alcaloides y triterpenos, siendo éstos últimos característicos del género *Croton*, sin embargo no todas las especies pertenecientes a éste género tienen actividad antimicótica.

Los resultados estadísticos demostraron que una vez conocida la actividad antimicótica de la planta se estableció que ambas concentraciones utilizadas no tuvieron la misma eficacia para inhibir a las cepas patógenas, siendo la de más concentración (50%) la que inhibe un área mayor del microorganismo. También se obtuvo extracto blando de la misma especie vegetal con la diferencia que éste tuvo actividad totalmente nula por lo que no se presentan datos al respecto, lo que posiblemente pudo deberse al disolvente utilizado (DMSO), ya que pudo bloquear la actividad antimicótica de algún componente de la planta al ser combinados.

## **Recomendaciones**

Al ser un país considerado como megadiverso se deberían ampliar los enfoques educativos hacia plantas endémicas o plantas que no se hayan estudiado previamente, y de esta manera no ser tan dependientes de la medicina moderna.

Para próximas investigaciones se deberían utilizar diferentes cepas bacterianas o diferentes cepas fúngicas con el fin de analizar en qué tipo de microorganismos es viable aplicar los extractos de la droga vegetal de la misma planta.

Para el proceso de activación de las cepas y la obtención del material fúngico, específicamente el caso de *Microsporium canis*, de no existir la cantidad suficiente de esporas, se lo debe exponer a condiciones de estrés microbiano para incrementar la fase logarítmica de crecimiento, de esta forma podrá acelerar el desarrollo de su proceso reproductivo y producir mayor esporas a un menor tiempo.

## Referencias

- Abrego, A. L. (2007). *COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO DE LA ESPECIE Pereskia autumnalis (Matial) EN EL HONGO Aspergillus niger*. San Salvador: UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.
- Acuña Arias, F. (2006). *Química Orgánica* (Primera ed.). San José, Costa Rica: EUNED.
- Albores Velasco, M., Caballero Arroyo, Y., González Quezada, Y., & Pozas Horcasitas, R. (2006). *Grupos Funcionales. Nomenclatura Y Reacciones Principales* (Primera edición ed.). México, México: UNAM.
- American Type Culture Collection. (2014). *ATCC: The Global Bioresource Center*. Recuperado el 22 de Junio de 2016, de sitio web de ATCC: <http://www.atcc.org/>
- Arango Acosta, G. J. (2002). *ALCALOIDES Y COMPUESTOS NITROGENADOS*. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA, Medellín.
- Argüello, A. (1991). La Etnobiología en el Ecuador. En M. Ríos, & H. Borgtoft Pedersen, *Las Plantas y El Hombre* (pág. 383). Quito: Abya Yala.
- Aristegui, B. . (2003). *Trichophyton rubrum* (Castellani) Sabouraud. *Revista Iberoamericana de Micología*, 43.
- Ausina, V. (2005). Fluconazol. En V. A. Ruiz, *Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica* (pág. 119). Madrid: Panamericana .
- Ávalos García, A., & Pérez-Urria Carril, E. (7 de Noviembre de 2009). Metabolismo secundario de plantas. (F. d. Complutense, Ed.) *Reduca (Biología)*, 122-139.
- Bello, A. (1991). Clotrimazol. En A. Bello, *Vademecum Farmacológico* (pág. 323). Santiago de Chile: Andres Bello.
- Blanco Gaitán, D., Teijón Rivera, J. M., Agrasal Aragón, C., & Olmo López, R. (2001). *Bioquímica estructural: conceptos y tests*. Madrid , España: Tébar.
- Bonilla Ríos, N. C., Varón, F. A., & Garzón, L. P. (17 de Septiembre de 2014). EXTRACCIÓN DE PIGMENTOS COLORANTES TIPO FLAVONOIDES, FLOR DEL POMO (*Syzygium jambos*). ZONA VERDE DEL IEAR.FLORENCIA CAQUETÁ. *Amazonía investiga*, 38.
- Bucay, L. C. (2009). *Estudio farmacognóstico y actividad antimicrobiana de la Violetilla*. Riobamba: Escuela superior politécnica del Chimborazo.
- Burns, R. A. (2011). *Fundamentos de química* (Quinta edición ed.). (P. Educación, Ed.) México, México: Pearson.



- Caldas, A. P. (2012). *Optimización escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido*. Cuenca: Universidad de Cuenca.
- Callisaya, J., Conde, D., & Choque, H. (Diciembre de 2007). Frecuencia de Gérmenes causantes de Micosis superficiales. *Biofarbo, IV*, 22.
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). Conteo de conidias en el hematócmetro o cámara de Neubauer. En V. Cañedo, & T. Ames, *Manual de laboratorio para manejo de hongos entomopatógenos* (págs. 41–42). Lima, Perú: Cañedo V., Ames T. 2004.
- Cerón Martínez, C. E. (2006). Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos. En M. Moraes R., B. Øllgaard, L. Peter Kvist, F. Borchsenius, & H. Balslev, *Botánica Económica de los Andes Centrales* (pág. 287). La Paz: Universidad Mayor de San Andrés (UMSA).
- Chiriboga. (2008). Uso de las plantas a la Fitofarmacología. *Universidad Central del Ecuador, 77-78*.
- Chiriboga, X. (2008). *Uso de las plantas a la fitofarmacología*. Presentación, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Quito.
- Cirilo Aguilar, B. G. (2003). *Determinación bioquímica, reductora ponderal y supresora de apetito de Smilax moranensis Martens & Galeotti y Centaurium quitense (Kunth) B.L: Robinson*. Tesis, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey.
- Corado, M. J. (2013). *EXTRACCIÓN Y DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ALCALOIDES EN LA FLOR DEL ÁRBOL DE PITO (Erythrina Berteroana)*. El salvador: ITCA-FEPADE.
- Doerner, M. (1998). *Los materiales de pintura y su empleo en el arte* (Sexta edición ed.). Barcelona, España: Reverté S.A.
- Donnersberger, A. B. (2002). Reacción de ninhidrina. En A. B. Donnersberger, *Libro de laboratorio de anatomía y fisiología* (pág. 385). Barcelona: Paidotribo.
- Ege, S. (2000). *Química orgánica: estructura y reactividad* (Vol. II). Barcelona, España: Reverté.
- Estrella, J., Manosalvas, R., Mariaca, J., & Ribadeneira, M. (2005). La biodiversidad: principales conceptos y algunas cifras. En J. Estrella, R. Manosalvas, J. Mariaca, & M. Ribadeneira, *Biodiversidad y Recursos Genéticos: Una guía para su uso y acceso en el Ecuador* (Abya Yala ed., pág. 27– 31). Quito, Pichincha, Ecuador: Abya Yala.
- FAO. (2007). *Buenas prácticas para la producción en pequeña escala de agua de coco embotellada*. Italia, Roma: FAO.
- Fica, A. (2004). Tratamiento de infecciones fúngicas sistémicas. *Rev Chil Infect*, 27.

- Fitzpatrick. (2009). Fluconazol. En Fitzpatrick, *Dermatología En Medicina General* (págs. 2116-2215). Buenos Aires: Panamericana.
- Forbes, B. (2007). Hongos filamentosos. En B. Forbes, *Diagnostico Microbiologico* (pág. 663–664). Madrid: Panamericana.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2009). *Diagnostico Microbiologico*. Madrid, España: Panamericana.
- Gallart Catalá, A., Campins Martí, M., & Moraga Llop, F. (2000). Infecciones nosocomiales en hospitales y servicios hospitalarios pediátricos. Epidemiología; Prevencion aspectos pediátricos sociales. En C. García Caballero, & A. González Meneses, *Tratado de Pediatría Social* (segunda ed., pág. 491). Madrid, España: Dias de Santos SA.
- Garcia, P. (1994). Trichophyton mentagrophytes. En F. Paredes, *Microbiología clínica práctica* (pág. 426). Cadiz: Universidad de Cadiz.
- Guadix. (2006). siembra en medio de cultivo sólido. En M. j. Garcia, *Centros Hospitalarios de Alta Resolucion de Andalucia* (pág. 290). España: MAD.
- Guerra Corado, A. E. (Julio de 2005). Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físicoquímicas químicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (*phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio. *OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS, BLANDOS Y SECOS ASÍ COMO LAS TINTURAS DEL RIZOMA Y DE LA FRONDA DE CALAHUALA (PHLEBODIUM PSEUDOAREUM) A NIVEL DE LABORATORIO*, 14-24. San Carlos, Guatemala.
- Guzmán, M. C. (2006). Neumonía Nosocomial. En M. A. Reyes, G. Aristizábal Duque, & F. J. Leal Quevedo, *Neumonía pediátrica, Infección, alergia y enfermedad respiratoria en el niño* (Quinta edición ed., pág. 274). Bogotá, Colombia: Panamericana.
- Hardy Diagnostics. (2015). *Hardy Diagnostics*. Recuperado el 22 de Junio de 2016, de sitio web Hardy Diagnostics: <http://www.hardydiagnostics.com>
- Hinojosa Dávalos, J., Gutiérrez Lomelí, M., Siller López, F., Rodríguez Sahagún, A., Morales Del Río, J. A., Guerrero Medina, P. J., & Del Toro Sánchez, C. L. (23 de Noviembre de 2012). SCREENING FITOQUÍMICO Y CAPACIDAD ANTIINFLAMATORIA DE HOJAS DE *Tithonia tubaeformis*. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, XV(2), 54-55.
- Ingraham, J. L. (1998). Dermatofitos: tiña . En J. L. Ingraham, *Introducción a la microbiología* (pág. 655). España: Reverte.

- Instituto Nacional de Investigaciones Nutricionales y Médicosociales. (1983). Hierbas Medicinales de Quito Urbano. En F. Ortega, P. Lozada Dávalos, R. Chicaiza, A. Racines Paredes, N. Vallejo, V. Zurita, . . . P. Negrete, *Hierbas Medicinales de Quito Urbano* (págs. 1-3). Quito: ININMS.
- Iowa State University. (1 de Mayo de 2005). Dermatofitosis. *The Center for Food Security and Public Health*, 2-3.
- Koneman, E. (2008). Identificación de los Dermatofitos. En E. Koneman, *Koneman. Diagnostico Microbiologico/ Microbiological diagnosis* (págs. 1139-1140). Buenos Aires: Panamericana.
- Lastra Menéndez, J. J. (2001). *Bosques naturales de Asturias*. Asturias, España: Universidad de Oviedo.
- Lizcano Ramón, A. J., & Vergara González, J. L. (18 de Julio de 2008). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanolicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales Valeriana pilosa, Hesperomeles ferruginea, Myrcianthes rhopaloides y Passiflora manicata frente a microorganismos patógenos y fitopatógen*. Trabajo de grado, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de ciencias, Bogotá.
- Lloret, A. (2009). *Microsporium canis: CARACTERÍSTICAS* . Recuperado el 1 de Octubre de 2015, de <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/dermatof.pdf>
- Macedo, & Blanco. (2008). Infecciones hospitalarias. En U. d. República, & D. d. Virología (Ed.), *Temas de Bacteriología y Virología Médica* (tercera edición ed., pág. 246–247). Montevideo, Uruguay: Fefmur.
- Martínez M., A., Valencia P., G. A., Jimenez U., N., Mesa, M., & Galeano J, E. (2008). *MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE FARMACOGNOSIA Y FITOQUÍMICA 2008*. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA. Medellín: FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA.
- Martínez Martínez, A. (2001). *SESQUITERPENLACTONAS*. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA, Medellín.
- MicroBioLogics. (2011). Saint cloud. *Microbiologics Retail Catalog*.
- Migdalia, M. (2002). *Farmacognosia y productos naturales*. La Habana, Cuba.
- Moreno Amado, M. (2003). Caracterización físico química de grasas, aceites y ceras. En M. Moreno Amado, *Guía para procesos de cerería, jabonería y cremas* (pág. 16). Bogotá, Colombia: Siglo Del Hombre Editores S.A.
- Moreno Casco, J., & Moral Herrero, R. (2008). *Compostaje*. Madrid, España: Mundi prensa.

- Moreno, D. A., & Servitje, O. (2006). INFECCIONES POR DERMATOFITOS. En E. Herrera Ceballos, A. Moreno Carazo, L. Requena Caballero, & J. L. Rodríguez Peralto, *Dermatopatología: Correlación Clínico-patológica* (pág. 291). Barcelona, España: Grupo Menarini.
- Morón Rodríguez, F., Victoria Amador, M. d., Morejón Rodríguez, Z., Martínez Guerra, M. J., López Barreiro, M., & Fuentes Fiallo, V. (Junio de 2006). Validación preclínica de extractos fluidos de *Croton argenteus* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 11(2).
- Mosquera, T. D., & Veloz Vera, T. M. (30 de Mayo de 2011). Eficacia in-vitro de un colutorio elaborado con aceite esencial de la hoja de ishpingo *Ocotea quixos* (Lam.) Kostern. ex O.C.Schmidt y clavo de olor *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry. *La Granja*, 13, 33.
- Negroni, M. (2009). Candidosis. En M. Negroni, *Microbiología Estomatológica* (págs. 399-400). Buenos Aires: Panamericana.
- OXOID. (12 de Noviembre de 2003). *Thermo scientific: Oxoid Microiology Products*. Recuperado el 22 de Junio de 2016, de sitio web Oxoid Microiology Products: <http://www.oxoid.com>
- Payo Hill, A., Dominicis, M. E., Mayor, J., Oquendo, M., & Sarduy, R. (Diciembre de 2001). TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE ESPECIES DEL GÉNERO CROTON L. *Revista Cubana de Farmacia*, 35(3), 203-204.
- Peña Díaz, A., Arroyo Begovich, Á., Gómez Puyou, A., & Tapia Ibarguengoytia, R. (2004). *Bioquímica* (Segunda edición ed.). México, México: Limusa .
- Pereda Rodríguez, M. Á. (1995). *Elaoración de sidra natural ecológica*. Madrid, España: Ediciones Nobel S.A.
- Primo Yúfera, E. (2007). *Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria*. Valencia, España: Reverté.
- Quituisaca Carrillo, A. d. (2015). *Extracción, aislamiento, caracterización y actividad antimicrobiana de metabolitos secundarios de Croton abutiloides de la familia Euphorbiaceae en la provincia de Loja*. Tesis, Universidad Técnica Particular de Loja, Loja.
- Remington. (2003). Extracción. En Remington, *Farmacia* (pág. 873). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Rigola Lapeña, M. (1990). *Tratamiento de aguas residuales: aguas de proceso y aguas residuales*. Barcelona, España: Marcombo.
- Ríos, M. (1991). Simposio Ecuatoriano de Etnobotánica y Botánica Económica. En M. Ríos, & H. Borgtoft Pedersen, *Las Plantas y El Hombre; Memorias del Primer Simposio Ecuatoriano de Etnobotánica y Botánica Económica* (págs. 166-167). Quito: Abya-Yala.

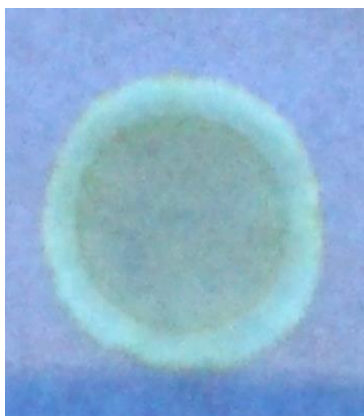
- Rocha de Albuquerque Lúcio, E. M. (2000). Tamizaje farmacológico y tamizaje fitoquímico. En N. Sharapin, & R. S. Pinzón (Ed.), *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos* (pág. 198). Bogotá, Santa Fé, Colombia: Red Iberoamericana de productos farmacéuticos.
- Romero, R. (2007). Aspectos Micológicos. En R. Romero, *Microbiología y parasitología humana* (pág. 1199). Mexico: Panamericana.
- Ruiz, V. A. (2005). Fluconazol espectro de actividad. En V. A. Ruiz, *Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica* (pág. 119). Barcelona: Panamericana .
- Sánchez-Saldaña, L. (2009). Infecciones micóticas superficiales. *Dermatología Peruana*, 227.
- Sanz, J. C., & Gallego, R. (2001). *Diccionario Akal del color*. Madrid, España: Akal S.A.
- Sing de Ugaz, O. L. (1997). *Colorantes naturales* (Primera edición ed.). Lima, Perú: Pontificia Universidad Católica de Perú.
- Sleinman, R., Al-Tannir, M., Dakdouki, G., Ziade, F., Abou, A., Rajab, M., & Dis, P. I. (Junio de 2007). Interpretación de la prueba de tuberculina en niños escolares vacunados con BCG y no vacunados. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 47(3), 121.
- Syngenta. (Agosto de 2010). *Syngenta* . Recuperado el 9 de Abril de 2016, de Syngenta Corporation: <http://www3.syngenta.com/>
- Tafur Recalde, V. (2011). Mosquera Croton menthodorus Euphorbiaceae. En V. Tafur Recalde, *Plantas Altoandinas del Ecuador* (pág. 38). Quito, Pichincha, Ecuador: Abya Yala.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal* (Vol. I). Castellón, España: Universitat Jaume.
- Toribio. (2007). Estudio de la actividad antimicrobiana de cuatro especies del género Baccharis. *Ciencia veterinaria* , 46.
- Toribio, M. (2007). Estudio de la actividad antimicrobiana de cuatro especies del género. *ciencia veterinaria*, 46.
- Triviño, A. R. (2011). *Conceptos y prácticas de Microbiología General*. Bogota: Universidad Nacional de Colombia.
- Valencia, R., Pitman, N., León-Yáñez, S., & Jørgensen M., P. (2000). Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador 2000. En R. Valencia, N. Pitman, S. León-Yáñez, P. Jørgensen M., & P. U. Ecuador (Ed.), *Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador 2000* (pág. 193). Quito, Pichincha, Ecuador: Herbario QCA.

- Valverde, E. (2000). Maceración. En N. Sharapin, *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (págs. 41-45). Colombia: Andrés Bello.
- Vandevenne, C. A. (1997). Método de siembra por inclusión o masa . En V. S. Almenar, *Prácticas. Microbiología de alimentos* (pág. 60). Leida : F.V. libros.
- Vilata, J. J. (2005). Candidiasis de mucosa. En J. J. Vilata, *Micosis cutáneas* (pág. 73–97). Buenos Aires: Panamericana.
- Warnock, K. (2008). Procedimientos diagnósticos . En J. Kotcher, *Instrumentación quirúrgica: teoría, técnicas y procedimientos* (pág. 421). Escocia : Panamericana.
- Wilkinson. (1990). Infecciones de pies. En Wilkinson, *Cosmetología de Harry* (pág. 215). Madrid: Diaz de Santos.
- Yanez, P. (2010). Analisis de Varianza. En P. Yanez, *Biometria y bioestadística fundamentales* (págs. 58 - 60). Quito.
- Yanez, S. L. (2011). *Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador*. Quito: Publicaciones del Herbario QCA.

## Anexos

### Tamizaje Fitoquímico de extracto fluido de *Croton elegans* a concentraciones de 25% y 50%

Anexo 1. Ensayo catequinas



Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 2. Ensayo resinas



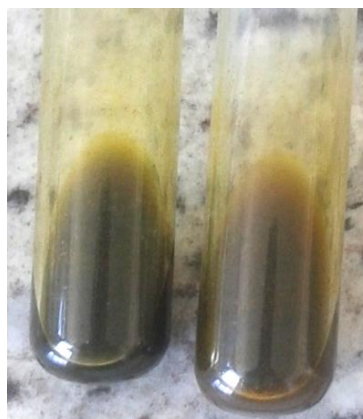
Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 3. Ensayo azúcares reductores



Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 4. Ensayo lactonas



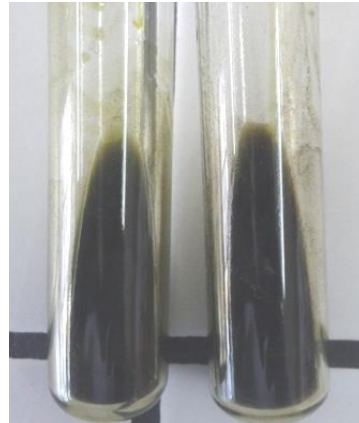
Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 5. Saponinas



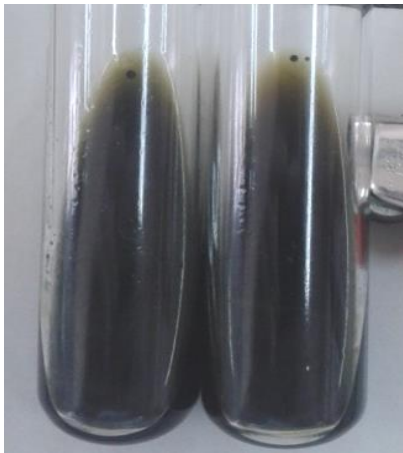
Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 6. Ensayo fenoles y taninos



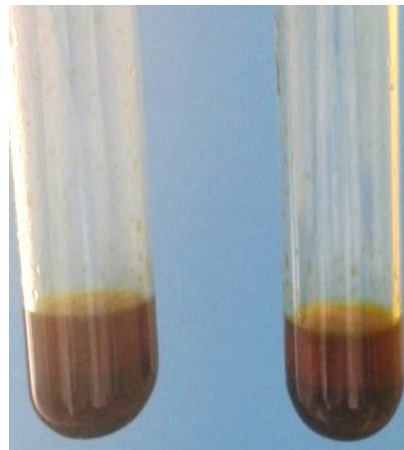
Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 7. Ensayo aminoácidos



Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 8. Ensayo quinonas



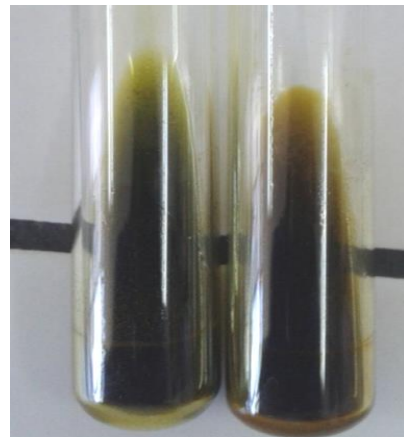
Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 9. Ensayo Flavonoides



Fuente: Guayasamin E., 2015

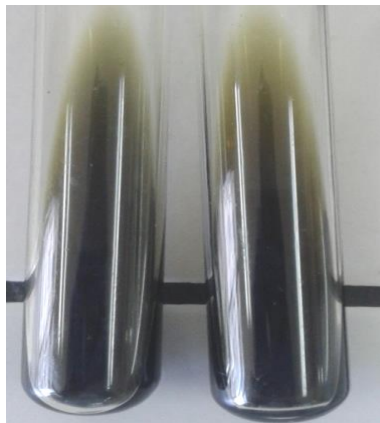
Anexo 10. Ensayo cardenólidos



Fuente: Guayasamin E., 2015



Anexo 11. Ensayo Antocianidina



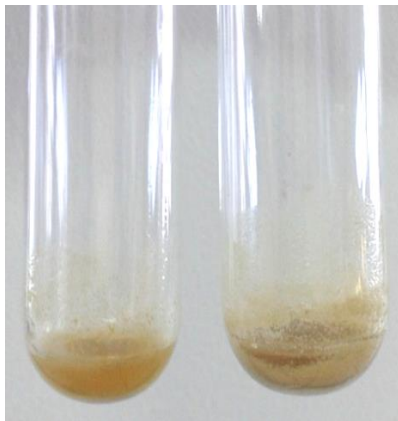
Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 12. Ensayo alcaloides Dragendorff



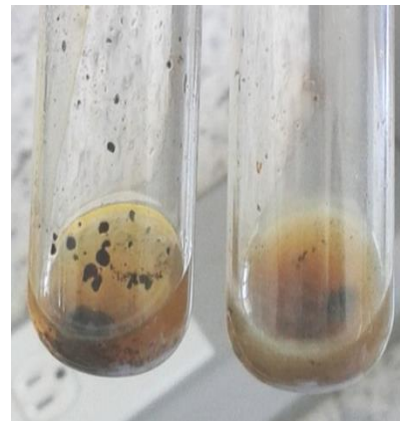
Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 13. Ensayo alcaloides Mayer



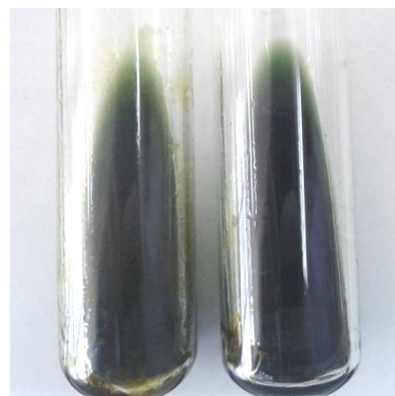
Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 14. Ensayo alcaloides Wagner



Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 15. Ensayo triterpenos/esteroides

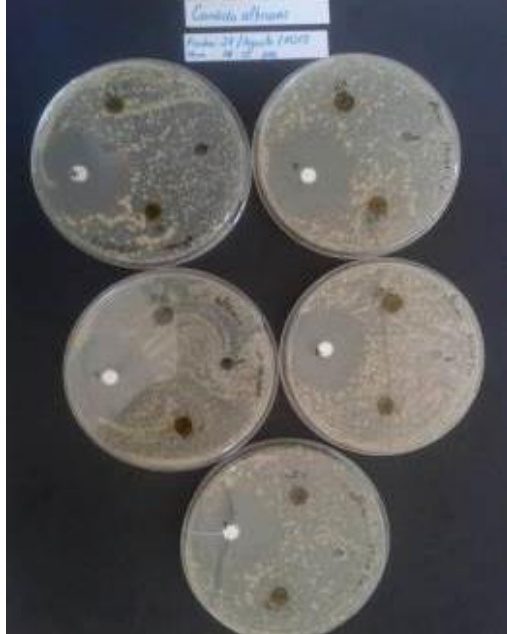


Fuente: Guayasamin E., 2015

**Halos inhibitorios de las cuatro diferentes cepas fúngicas a dos concentraciones:**

**25% y 50%**

Anexo 16. Halos de inhibición de *Candida albicans* ATCC 10231 frente a *Croton elegans*



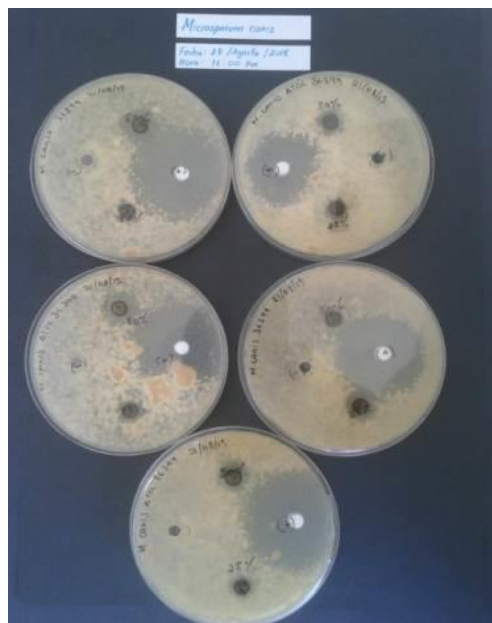
Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 17. Halos de inhibición de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 frente a *Croton elegans*



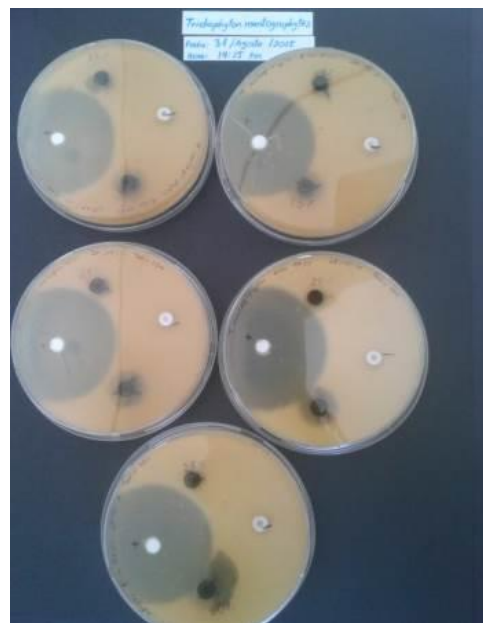
Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 18. Halos de inhibición de *Microsporum canis* ATCC 36299 frente a *Croton elegans*



Fuente: Guayasamin E., 2015

Anexo 19. Halos de inhibición de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 frente a *Croton elegans*



Fuente: Guayasamin E., 2015

## Certificación de la planta mosquera (*Croton elegans*)

Anexo 20. Certificación de *Croton elegans*


Quito, 08 de Mayo del 2015

### CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

El espécimen examinado corresponden a:

#### ***Croton elegans* Kunth**

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Rosanae Takht.
- Orden: Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl
- Familia: Euphorbiaceae Juss.
- Género: *Croton* L.
- Especie: *elegans* Kunth
- Nombre común: mosquera

  
Álvaro J. Pérez Castañeda  
Curador de Angiospermas Herbario QCA

Fuente: Herbario Universidad Católica de Quito, 2015