



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

TEMA:

ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANÓLICOS
DE LA PLANTA *Senna pistaciifolia* CONTRA LA PRESENCIA DE *Candida*
albicans
(HONGOS).

TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO
PARA OPTAR POR EL GRADO DE **QUÍMICO Y FARMACÉUTICO**

AUTORES:

JOHAN NICOLAS SUSCAL ESPINOZA
GÉNESIS KATHERINE VITE CANO

TUTORA:

Q.F. MARÍA AUXILIADORA ALARCÓN, Mg

CO-TUTOR:

Q.F. OSWALDO PESANTES, MSc.

GUAYAQUIL- ECUADOR
2018



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANÓLICOS DE LA PLANTA <i>Senna pistaciifolia</i> CONTRA LA PRESENCIA DE <i>Candida albicans</i> (HONGOS).		
AUTOR(ES) (apellidos/nombres):	Johan Nicolas Suscal Espinoza Génesis Katherine Vite Cano		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES) (apellidos/nombres):	Q.F. María Auxiliadora Alarcón, Mg (Tutor) Dra. María Elena Jiménez MSc. (Revisor)		
INSTITUCIÓN:	Universidad de Guayaquil		
UNIDAD/FACULTAD:	Ciencias Química		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:	Química y Farmacia		
GRADO OBTENIDO:	Tercer Nivel : Químico y Farmacéutico		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	2018	No. DE PÁGINAS:	60
ÁREAS TEMÁTICAS:	Investigación : Farmacognosia y Fitoquímica		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	Antimicótica, <i>Candida albicans</i> , extracto, microorganismos.		
RESUMEN/ABSTRACT: Se determinó la actividad antimicótica del extracto acuoso de la planta <i>Senna pistaciifolia</i> contra la presencia de <i>Candida albicans</i> , haciendo estudios para saber si la planta es antimicótica y si es favorable para las personas que tienen este tipo de hongo. Se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios de una especie natural; ya sea alcaloide, antraquinona y naftaquinonas, esteroides, triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas y glucósidos. El análisis se elaboró en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil. En este proyecto se evaluó la actividad antimicótica de extracto tanto acuoso como alcohólico de la planta <i>Senna pistaciifolia</i> , que fue obtenido por el métodos maceración y filtrado al vacío, el extracto acuoso con agua destilada, el extracto alcohólico con una concentración de alcohol al 70%, evaluándose la actividad antimicótica contra <i>Candida albicans</i> (Hongos), mediante los métodos de Kirby Bauer (discos) se determinó la difusión en agar. Se realizó el tamizaje fitoquímico evaluando la intensidad mediante el uso de cruces y de color. Encontramos que el metabolito secundario más abundante son los flavonoides (coloración rojo intenso), es moderado en glucósidos y en muy poca cantidad los taninos con ausencia de aceites esenciales, triterpenos, antraquinonas y esteroide, encontrado en el extracto alcohólico; y en el extracto acuoso se obtuvo la presencia abundante de cumarinas y moderada en alcaloides y saponinas.			
ADJUNTO PDF:	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 0967413453 0960975314	E-mail: vitecanogenesis@hotmail.com johansuscal@hotmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: Secretaría Ciencias Químicas		
	Teléfono: (04)2-293680		
	E-mail: www.fcq.ug.edu.ec		



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS

**CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN****CERTIFICADO DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Guayaquil 2 de Abril del 2018

Sr. MSc, QF Carlos Silva Huilcapi
DIRECTORA DE LA CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.- Guayaquil

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación **ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANÓLICOS DE LA PLANTA *Senna pistaciifolia* CONTRA LA PRESENCIA DE *Candida albicans* (HONGOS)** de los estudiantes **Johan Nicolas Suscal Espinoza** y **Génesis Katherine Vite Cano**, indicando ha (n) cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación. Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, CERTIFICO, para los fines pertinentes, que el (los) estudiante (s) está (n) apto (s) para continuar con el proceso de revisión final. Atentamente

Q.F. María Auxiliadora Alarcón, Mg
TUTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN
C.I. 0905256871



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA



UNIDAD DE TITULACIÓN

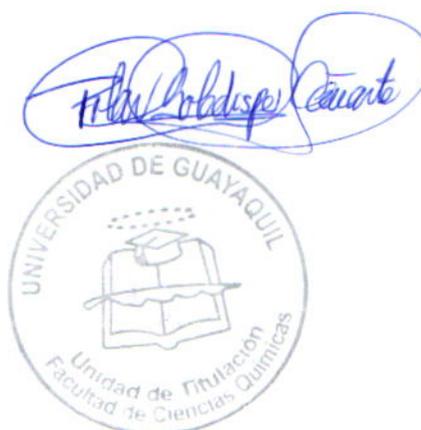
CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

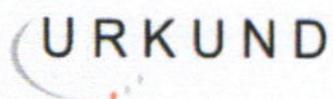
Habiendo sido nombrado **Q.F. MARÍA AUXILIADORA ALARCÓN**, tutora del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por **JOHAN NICOLAS SUSCAL ESPINOZA** con N° **0916237555** y **GÈNESIS KATHERINE VITE CANO** con N° **0931177661**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **QUÍMICO Y FARMACÉUTICO**.

Se informa que el trabajo de titulación: "**ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANÓLICOS DE LA PLANTA *Senna pistaciifolia* CONTRA LA PRESENCIA DE *Candida albicans* (HONGOS)**", ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio quedando el **2 %** de coincidencia.

<https://secure.arkund.com/view/34610032-580639-116358#qlbKLvayibQMdQxitVRKs5Mz8tMy0xOzEtOVbly0DMwNDQyN7WwMDYyNzclMjYxMKsFAA==>

Q.F. María Auxiliadora Alarcón, Mg
TUTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN
C.I. 0905256871





Urkund Analysis Result

Analysed Document: Tesis SUSCAL Y VITE (2).doc (D35163695)
Submitted: 1/30/2018 8:13:00 PM
Submitted By: gues_66@yahoo.com
Significance: 2 %

Sources included in the report:

TESIS JLO.docx (D11898950)
<https://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:907160>

Instances where selected sources appear:

3

A handwritten signature in blue ink, which appears to read "Rafael Galdames Cárdenas". The signature is enclosed within a blue oval.





FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA



UNIDAD DE TITULACIÓN

LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS

Yo, con, **JOHAN NICOLAS SUSCAL ESPINOZA** con C.I. N° **0916237555** y **GÉNESIS KATHERINE VITE CANO** con C.I. N° **0931177661**, certifico que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **“ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANÓLICOS DE LA PLANTA *Senna pistaciifolia* CONTRA LA PRESENCIA DE *Candida albicans* (HONGOS)”**, son de mi absoluta propiedad y responsabilidad Y SEGÚN EL Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente.

JOHAN SUSCAL ESPINOZA
C.I. 0916237555

GÉNESIS VITE CANO
C.I. 0931177661

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de tutora del Trabajo de Titulación, Certifico: Que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es **ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANÓLICOS DE LA PLANTA *Senna pistaciifolia* CONTRA LA PRESENCIA DE *Candida albicans* (HONGOS)**, presentado por **JOHAN NICOLAS SUSCAL ESPINOZA**, con cédula de ciudadanía N° **0916237555** y **GÉNESIS KATHERINE VITE CANO**, con cédula de ciudadanía N° **0931177661**, previo a la obtención del título de Químico y Farmacéutico.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Anti-plagio del programa URKUND. Lo Certifico.-

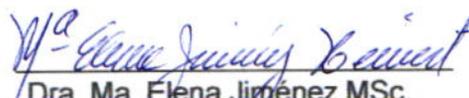

Q.F. MARÍA AUXILIADORA ALARCÓN, Mg.
TUTORA DE TESIS


Q.F. OSWALDO PESANTES, MSc.
CO-TUTOR DE TESIS

Guayaquil, Marzo de 2018

CERTIFICADO DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrada **Dra. Ma. Elena Jiménez MSc.** Tutora revisora del trabajo de titulación "**ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANÓLICOS DE LA PLANTA *Senna pistaciifolia* CONTRA LA PRESENCIA DE *Candida albicans* (HONGOS)**", certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por **JOHAN NICOLAS SUSCAL ESPINOZA**, con cédula de ciudadanía N° **0916237555** y **GÉNESIS KATHERINE VITE CANO**, con cédula de ciudadanía N° **0931177661**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químicos Farmacéuticos, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

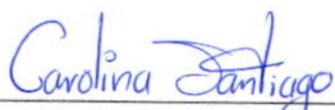

Dra. Ma. Elena Jiménez MSc.
TUTOR REVISOR

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

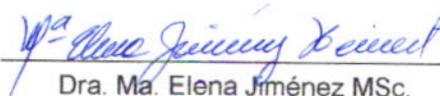
El Tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación del Sr. **JOHAN NICOLAS SUSCAL ESPINOZA** y la Srta. **GÉNESIS KATHERINE VITE CANO**, después de ser examinado en su presentación, memoria científica y defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación.



Dr. Adonis Bello Alarcón PhD.
PRESIDENTE – MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Dra. Carolina Santiago PhD.
DOCENTE 2 MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Dra. Ma. Elena Jiménez MSc.
DOCENTE 3 MIEMBRO DEL TRIBUNAL



AB. Francisco Palomeque
SECRETARIO GENERAL

CARTA DE AUTORÍA DE TITULACIÓN

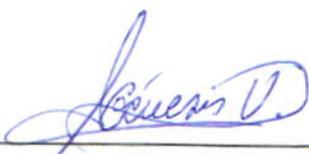
Guayaquil, Marzo 2018

Nosotros, **JOHAN NICOLAS SUSCAL ESPINOZA** y **GÉNESIS KATHERINE VITE CANO**, autores de este trabajo declaramos ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este **TRABAJO DE TITULACIÓN**, nos corresponde a nosotros exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la **FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL**.

Declaramos también, que todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto, es de nuestra autoría. Además ratificamos que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en una Universidad Nacional, ni una Extranjera.



Johan Nicolas Suscal Espinoza
C.I. 0916237555



Génesis Katherine Vite Cano
C.I.0931177661

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradecemos a Dios por ayudarnos en todo, él nos da fuerzas para seguir en esta carrera y también le agradecemos a nuestras familias porque siempre estuvieron apoyándonos sin condiciones a seguir adelante hasta cumplir con nuestras metas.

A nuestra Tutora la Dra. María Auxiliadora Alarcón y Co-Tutor el Dr. Oswaldo Pesantes, les agradecemos por ser nuestros guías y gran ayuda en brindarnos sus conocimientos para nuestro crecimiento profesional.

A los demás docentes y a las personas amigas que nos ayudaron de una u otra forma a crecer como personas y profesionales.

ÍNDICE GENERAL

	Página
FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN	I
CERTIFICADO DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	II
CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD	III
LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS	V
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	VI
CERTIFICADO DEL TUTOR REVISOR.....	VII
CERTIFICADO DEL TRIBUNAL	VIII
CARTA DE AUTORÍA DE TITULACIÓN	IX
ÍNDICE GENERAL	X
ÍNDICE DE TABLAS	XIV
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XV
RESUMEN	XVI
ABSTRACT	XVII
INTRODUCCIÓN.....	1
Justificación.	2
OBJETIVOS:.....	3
OBJETIVO GENERAL:	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	3
VARIABLES.....	3
DEPENDIENTES.	3
INDEPENDIENTES.	3
CAPITULO I. MARCO TEÓRICO.	4
I.1 Fundamentos teóricos.	4
I.1.1. <i>Senna pistaciifolia</i>	5
I.1.2. Descripción.....	5
I.1.3. Especies.	6
I.1.4. Taxonomía.....	6

<i>I.1.5. Historia.</i>	7
<i>I.1.6. Distribución y hábitat.</i>	7
<i>I.1.7. Condiciones agroecológicas.</i>	7
<i>I.1.8 Reproducción.</i>	8
<i>I.1.9. Usos medicinales.</i>	8
I.2. Actividad antimicótica.	8
I.3. Método de difusión.	9
I.4. Medios de Cultivos.	9
<i>I.4.1. Papa dextrosa agar (PDA).</i>	9
I.5. <i>Candida albicans.</i>	9
<i>I.5.1. Morfología.</i>	10
<i>I.5.2. Clasificación taxonómica.</i>	10
<i>I.5.3. Epidemiología.</i>	11
<i>I.5.4. Formas clínicas.</i>	11
<i>I.5.4.1. Bucal.</i>	11
<i>I.5.4.2. Intertriginosa.</i>	12
<i>I.5.4.3. Vulvovaginitis.</i>	12
<i>I.5.4.4. Balanitis.</i>	12
<i>I.5.4.5. Candidiasis por el pañal.</i>	13
<i>I.5.4.6. Onicomicosis y perionixis.</i>	13
<i>I.5.4.7. Esofagitis.</i>	13
<i>I.5.4.8. Endocarditis.</i>	14
<i>I.5.4.9. Tracto urinario.</i>	14
<i>I.5.4.10. Sistema nervioso central.</i>	14
<i>I.5.4.11. Peritonitis.</i>	14
<i>I.5.4.12. Ocular.</i>	15
I.6. Tratamientos.	15
I.7. Metabolitos secundarios.	15
I.8. Pruebas químicas preliminares.	18
<i>I.8.1 Marcha Fitoquímica preliminar.</i>	20

I.9. Extracto.....	20
<i>I.9.1 Obtención de extractos.</i>	21
I.10. Métodos de extracción.	22
I.11. Filtración al vacío.....	23
I.12. Análisis fitoquímico.	24
I.13. Tamizaje fitoquímico.....	25
I.14. Diferencia entre metabolitos primarios y secundarios.....	27
<i>I.14.1. Metabolitos primarios:</i>	27
<i>I.14.2. Metabolitos secundarios:</i>	28
I.15. Clasificación de los metabolitos secundarios.	29
I.16. Glosario.	30
CAPITULO II. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	31
2.1. Tipo de Investigación.....	31
2.2. Diseño de la investigación.....	32
2.2.1. Lugar de la investigación.	32
2.2.2. Periodo de la investigación.....	32
2.2.3. Recursos empleados.....	32
2.2.3.1. Talento humano.	32
2.2.4. Muestra y universo.....	32
2.3. Metodología.....	32
2.4. Recolección y selección del material vegetal.	33
2.5. Comprobación taxonómica.	33
2.6. Secado y trituración del material vegetal.....	34
2.7. Factores de estudio.	35
2.8. Obtención de los extractos.	35
2.9. Filtración al vacío.	35
2.10. Análisis preliminar fitoquímico.....	36
2.10.1. Extracto acuoso.	36
2.10.2. Determinación de alcaloides.....	36
2.10.3. Determinación de saponinas.....	37

2.10.4. <i>Determinación de cumarinas.</i>	37
2.10.5. <i>Determinación de taninos.</i>	38
2.10.6. <i>Determinación de glucósidos.</i>	38
2.10.7. <i>Determinación de glucósidos cardiotónicos.</i>	38
2.10.8. <i>Determinación de glucósidos cianogénicos.</i>	38
2.10.9. <i>Determinación de aceites esenciales.</i>	39
2.10.10. <i>Determinación de flavonoides.</i>	39
2.10.11. <i>Determinación de triterpenos.</i>	39
2.10.12. <i>Determinación de antraquinona.</i>	40
2.10.13. <i>Determinación de esteroides.</i>	40
2.11. <i>Análisis microbiológico.</i>	40
2.11.1. <i>Actividad antimicótica por discos.</i>	40
2.11.2. <i>Determinación de sensibilidad antifúngica.</i>	41
2.11.3. <i>Técnica de la Difusión en agar con disco.</i>	41
2.11.4. <i>Preparación del inóculo</i>	43
2.11.5. <i>Siembra por dispersión con hisopo.</i>	43
2.11.6. <i>Preparación de los discos de papel filtro.</i>	43
2.11.7. <i>Colocación de los discos de antimicótico.</i>	44
2.11.8. <i>Incubación de las placas.</i>	44
2.11.9. <i>Lectura de las zonas de inhibición.</i>	44
CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	45
III.1. <i>Resultados.</i>	45
III.2. <i>Discusión.</i>	49
CAPITULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	50
IV.1. <i>Conclusiones.</i>	50
IV.2. <i>Recomendaciones.</i>	51
CAPITULO V. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.	52
ANEXO A.	55
ANEXO B.	57
ANEXO C.	60

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
TABLA I.....	49
TABLA II.....	50

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
GRÁFICO I.....	6
GRÁFICO II.....	11
GRÁFICO III.....	31
GRÁFICO IV.....	36
GRÁFICO V.....	45
GRÁFICO VI.....	50
GRÁFICO VII.....	51
GRÁFICO VIII.....	51
GRÁFICO IX.....	51
GRÁFICO X.....	61
GRÁFICO XI.....	61
GRÁFICO XII.....	61
GRÁFICO XIII.....	62
GRÁFICO XIV.....	62
GRÁFICO XV.....	62

Autores: Johan Suscal Espinoza
Génesis Vite Cano

Tutor: Q.F. María Auxiliadora Alarcón, Mg

RESUMEN

Se determinó la actividad antimicótica del extracto acuoso de la planta *Senna pistaciifolia* contra la presencia de *Candida albicans*, haciendo estudios para saber si la planta es antimicótica y si es favorable para las personas que tienen este tipo de hongo. Se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios de una especie natural; ya sea alcaloide, antraquinona y naftaquinonas, esteroides, triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas y glucósidos. El análisis se elaboró en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil. En este proyecto se evaluó la actividad antimicótica de extracto tanto acuoso como alcohólico de la planta *Senna pistaciifolia*, que fue obtenido por el métodos maceración y filtrado al vacío, el extracto acuoso con agua destilada, el extracto alcohólico con una concentración de alcohol al 70%, evaluándose la actividad antimicótica contra *Candida albicans* (Hongos), mediante los métodos de Kirby Bauer (discos) se determinó la difusión en agar. Se realizó el tamizaje fitoquímico evaluando la intensidad mediante el uso de cruces y de color. Encontramos que el metabolito secundario más abundante son los flavonoides (coloración rojo intenso), es moderado en glucósidos y en muy poca cantidad los taninos con ausencia de aceites esenciales, triterpenos, antraquinonas y esteroide, encontrado en el extracto alcohólico; y en el extracto acuoso se obtuvo la presencia abundante de cumarinas y moderada en alcaloides y saponinas.

Palabras claves: Antimicótica, *Candida albicans*, extracto, microorganismos.

Author: Johan Suscal Espinoza
Génesis Vite Cano

Advisor: Q.F. María Auxiliadora Alarcón, Mg

ABSTRACT

The antifungal activity of the aqueous extract of the plant *Senna pistaciifolia* against the presence of *Candida albicans* was determined, making studies to know if the plant is antifungal and if it is favorable for people who have this type of fungus. The presence or absence of secondary metabolites of a natural species was evaluated; alkaloid, anthraquinone and naphthaquinones, steroids, triterpenes, flavonoids, tannins, saponins, coumarins and glycosides. The analysis was elaborated in the Faculty of Chemical Sciences of the University of Guayaquil. This project evaluated the antifungal activity of both aqueous and alcoholic extract of the *Senna pistaciifolia* plant, which was obtained by the maceration and vacuum filtration methods, the aqueous extract with distilled water, the alcoholic extract with an alcohol concentration at 70 %, evaluating the antifungal activity against *Candida albicans* (Fungi), using the Kirby Bauer methods (disks) the diffusion was determined in agar. Phytochemical screening was carried out evaluating the intensity through the use of crosses and color. We find that the most abundant secondary metabolite are flavonoids (intense red coloration), it is moderate in glycosides and in very little quantity the tannins with absence of essential oils, triterpenes, anthraquinones and steroid, found in the alcoholic extract; and in the aqueous extract the abundant presence of coumarins was obtained and moderate in alkaloids and saponins.

Words keys: Antifungal, *Candida albicans*, extract, microorganisms.

INTRODUCCIÓN

La *Senna pistaciifolia* es una flora tropical, se origina en Colombia, Venezuela y Ecuador, pertenece a la familia Fabaceae, la cual provee alcaloides, flavonoides, glucósidos, cumarinas. Esta especie posee propiedades curativas con actividad antimicótica, antimicrobiana, antiinflamatorios y como laxantes, (Campos, 2012).

Investigaciones realizadas en Riobamba de la actividad antimicrobiana de la planta *Senna multijuga*, proveen de pruebas comprobadas tanto en la parte fitoquímicas como antimicrobiana, (Sisalema, 2013).

Hace cinco años se han realizado estudios antiinflamatorios y cicatrizantes del extracto alcohólico de las hojas de *Senna reticulata*, demostrando evidencia cicatrizantes, (Carbajal, 2013).

La problemática de la presente investigación es saber si tiene actividad antimicótica la planta *Senna pistaciifolia*, ya que se ha demostrado que la familia Fabaceae del género *Senna* presenta beneficios.

El uso de las propiedades medicinales de las plantas, está vigente desde mucho tiempo atrás y ha jugado un papel importante para la salud de las personas con algunas dolencias ya que se pueden utilizar en diferentes preparaciones.

Para iniciarse en el estudio de los extractos de plantas, se requiere de mucho tiempo y recursos ya que se necesita de adjuntar información requerida para determinar una composición química específica de la planta.

Cada una de estas pruebas son actividades biológicas, en la cual dan como resultado un análisis preliminar que pueden guiarnos a una buena investigación.

El objetivo de este análisis preliminar es determinar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios de una especie natural; ya sea alcaloide, antraquinona y naftaquinonas, esteroides, triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas y glúcidos.

Se evalúa, la actividad antimicótica, en diferentes concentraciones del extracto acuoso y el extracto alcohólico de las hojas de *Senna pistaciifolia* con el método de difusión en agar, contra la *Candida albicans* (Hongos).

PROBLEMA.

Justificación.

La medicina natural con el pasar de los años ha elaborado productos farmacéuticos que disminuyen las dolencias de algunas personas y otras que aún no han podido resolver su enfermedad.

La *Senna pistaciifolia* al igual que muchas de sus especie, son plantas benéficas que han resuelto problemas cutáneos en la medicina ancestral de la costa ecuatoriana.

Para demostrar los beneficios que esta posee, se evalúa demostrando la actividad antimicótica de la misma y como esta actividad contrarresta las dolencias cutáneas en las personas.

La necesidad de buscar una cura contra los hongos, nos ayuda a evaluar la actividad antimicótica del extracto acuoso de la planta *Senna pistaciifolia*, que favorecerá a un gran número de personas.

OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar la actividad antimicótica del extracto acuoso y etanólico de la planta *Senna pistaciifolia* sobre la *Candida albicans* (hongos).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar los metabolitos causante del efecto antimicótico del extracto acuoso de la planta *Senna pistaciifolia* por medio del tamizaje fitoquímico.
- Relacionar mediante análisis microbiológico la inhibición del crecimiento del hongo *Candida albicans* (hongos) por el método de difusión Kirby Bauer (discos).

VARIABLES.

DEPENDIENTES.

- Tamizaje fitoquímico
- Halo de inhibición

INDEPENDIENTES.

- Antimicótico.

CAPITULO I. MARCO TEÓRICO.

I.1 Fundamentos teóricos.

Los principios activos de esta planta se encuentran en diferentes partes de sus órganos, de manera que produce efectos satisfactorios en el hombre y en animales. Se ha llegado a un cálculo de 260.000 especies de plantas, que en las cuales el 10% son estudiadas a lo largo del tiempo y se consideran como medicinales, (Campos, 2012).

El porcentaje de estas especies de plantas pueden variar, ya que no se las estudia a fondo como debe de ser, sobre todo en las costas del Ecuador.

Estas plantas naturales recorren por procesos botánicos y fitoquímicos desde plantas como arbustos hasta arboles, encontrando acción farmacológicas en ciertas partes de la planta. El uso de estas plantas medicinales en Ecuador es grande en la vida diaria de las personas, (Campos, 2012).

La medicina ancestral se practica por personas del pueblo, con escaso nivel de conocimiento así como las personas que habitan en la selva tropical. Encontramos gran gama de variedades de especie de *Senna* que se expenden en diferentes partes de la Costa, Sierra y Amazonía, (Campos, 2012).

Investigaciones realizadas en Perú de los extractos metanólicos, etanólicos y acuoso de *Cassia reticulata* proveniente de la misma familia de *Senna* que es la Fabaceae, *Ilex guayusa* Loes (hojas), *Piper lineatum* (hojas) y *Terminaliam catappa* (hojas) frente a *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y hongos como *A. niger*, *C. albicans*, y *M. canis*, utilizando el método de Kirby Bauer de difusión en agar concluyeron que la *Candida albicans* obtuvo un porcentaje de susceptibilidad de (83%), *S.aureus* (67%), *S. epidermidis* (67%), *M. canis* (50%), (Cauti, 2017).

1.1.1. Senna pistaciifolia

Es una planta ornamental, conocido comúnmente como Abejón y se identifica por sus 5-10 pares de hojas pinnadas con 10cm de longitud de fruto plano, con flores amarillas. Tiene una altitud de 8 a 15 metros y se origina en Colombia, Venezuela y Ecuador, ya que es una especie aceptada y de rápido crecimiento, (Vargas, 2002).

Su forma de copa es globosa, sus hojas paripinnada, posición de las hojas alterna, disposición de las flores es panícula y es de color amarillo, su fruto es color verde son legumbres planas que a su vez son semillas, (UEIA, 2014).

La familia Fabaceae, es nativa de regiones tropicales así como de regiones templadas. Con más de 250 especies medicinales, en las cuales 332 son descritas y 263 aceptadas. Este tipo de Senna son de flores amarillas, algunas veces arbustos o literalmente arboles pequeños, (Senna, 2017).

1.1.2. Descripción.

Suelen llamarlas paripinnadas por sus hojas pubescentes; en la cual forma una panícula efoliada con sus pedicelos bracteados, sépalos libres con 5 pétalos amarillos y marchitas se observa un tono café-anaranjado, cuyos estambres son más largos en grupo de 3 estaminodios cortos, 4 centrales fértiles y 3 abaxiales con anteras basifijas como truncadas y ovarios céntrico.

Es un fruto plano con valvas papiráceas leñosas, seguido de una cavidad septada y carnosa por dentro, o a veces indehiscentes ósea que no está preparado para abrirse espontáneamente con 1 o 2 semillas seriadas, (Senna, 2017).

Es un árbol hasta 8 m de alto. Hojas alternas, paripinnadas, 20-40 cm; foliolos, oblongo- elípticos, 2-3 cm, glabros; peciolos 5 – 10 cm. Inflorescencia una panícula, terminal; flores amarillas, frutos verde plano, (Guay, 2017).

I.1.3. Especies.

<i>Senna aculeata</i>	<i>Senna nicaraguensis</i>
<i>Senna alexandrina</i> Mill.	<i>Senna nitida</i>
<i>Senna alata</i> (arbusto candela)	<i>Senna italica</i>
<i>Senna candolleana</i> (quebracho)	<i>Senna obtusifolia</i>
<i>Senna didymobotrya</i>	<i>Senna occidentalis</i>
<i>Senna fruticosa</i>	<i>Senna odorata</i>
<i>Senna hebecarpa</i> (UEIA, 2014)	<i>Senna oligophylla</i>
<i>Senna helmsii</i>	<i>Senna pallida</i> o <i>pistaciifolia</i>
<i>Senna hirsuta</i>	lora L.), denominada abejón
<i>Senna italica</i>	<i>Senna purpusii</i>
<i>Senna ligustrina</i>	<i>Senna siamea</i>
<i>Senna lindheimeriana</i>	<i>Senna viarum</i>
<i>Senna macranthera</i>	<i>Senna wislizeni</i> (The Plant List, 2017)
<i>Senna marilandica</i>	
<i>Senna multiglandulosa</i>	
<i>Senna multijuga</i>	

Gráfico I: Diferentes especies de Senna

I.1.4. Taxonomía.

- **Reino:** Plantae
- **División:** Tracheophyta
- **Clase:** Equisetopsida
- **Subclase:** Magnoliidae
- **Superorden:** Rosanae
- **Orden:** Fabales Bromhead
- **Familia:** Fabaceae Lindl.

- **Género:** *Senna* Mill.
- **Especie:** *pistaciifolia*
- **Nombre científico:** *Senna pistaciifolia*
- **Nombre común:** Abejón
- **Autor:** (kunth) H.S. Irwin y Barneby, (Guay, 2017).

1.1.5. Historia.

En el siglo XVI, Francisco Hernández relata que cura los tumores, úlceras, las hojas y las raíces molidas son de las apostemas ya machacadas, untadas y curan las rozaduras, empeine, la lepra. Y en siglo XX Maximino Martínez lo publican como antipiréticos, catártico contra dermatosis para sanar enfermedades, (Ocampo & Valverde, 2000).

En el siglo XXI la mayoría de *Senna* tanto hojas y vainas la utilizan como laxantes, mediante la interacción con las bacterias en el tracto digestivo, lo que resulta en contracciones intestinales, (Herbwisdom, 2018).

1.1.6. Distribución y hábitat.

Es nativo en Ecuador, Venezuela y Colombia y se encuentran en diversas partes de América tropical. Se considera especie invasora de Indonesia, y se la puede encontrar en viveros ya que también es ornamental, (Ocampo & Valverde, 2000).

1.1.7. Condiciones agroecológicas.

Se siembra en suelos húmedos o en selva tropicales y su crecimiento es muy rápido y florece a fines de año, (Ocampo & Valverde, 2000).

1.1.8 Reproducción.

La semilla de Senna se siembra directa en el suelo o en viveros, ya que su cubierta puede interferir en la germinación, (Ocampo & Valverde, 2000).

1.1.9. Usos medicinales.

Es conocido como Abejón por su eficacia para tratamiento de enfermedades cutáneas antimicóticas de la piel. Su efecto antimicótico es debido a su alta concentración de precipitado en flavonoides.

1.2. Actividad antimicótica.

El término compuesto antifúngico se refiere a un compuesto químico producido biosintéticamente que podría destruir o suprimir el metabolismo dañino, (Guadalupe & M.G, 2013).

Un método muy utilizado en las diversas investigaciones para evaluar la actividad antimicótica de los metabolitos secundarios es denominado difusión en agar, utilizando caja petri para los ensayos, (Guadalupe & M.G, 2013).

Se basa en la medición del área de crecimiento del hongo en el medio control en relación al crecimiento con el medio con extractos, (Guadalupe & M.G, 2013).

Consiste en un extracto vegetal capaz de inhibir el crecimiento de hongos; por lo que se comprueba mediante el método de difusión, dando como resultado el tamaño del halo de inhibición, (Ocampo & Valverde, 2000).

Los microorganismos están presentes en todas partes, son organismos diminutos que no se los pueden ver a simple vista, (Ocampo & Valverde, 2000).

I.3. Método de difusión.

En esta técnica se establece la existencia entre la concentración de una sustancia que tiene como objetivo inhibir el crecimiento de un microorganismo, y el tamaño del halo de inhibición que crece en el medio de cultivo con el hongo, agregando al agar disco de sensibilidad en blanco, ya que los halos de inhibición se expresan en mm, (Vasquez & Sobel, 2011).

I.4. Medios de Cultivos.

Múltiples son los medios en los que se pueden aislar hongos, dentro de los más utilizados están: Medio Sabouraud Dextrosa (SAB), Medio Sabouraud con Cloranfenicol y Gentamicina (SAB G+C/SABHI G + C), Papa Dextrosa Agar (PDA), (Vasquez & Sobel, 2011).

I.4.1. Papa dextrosa agar (PDA).

Es un medio usado para aislar todo tipo de hongo, contiene papa sin pelar 200g, Dextrosa 10g, Agar 18g, Agua destilada 1 litro, (Vasquez & Sobel, 2011).

I.5. *Candida albicans.*

Son agentes patógenos que se encuentran en todas partes, es decir su distribución geográfica es universal como por ejemplo en los vegetales, suelo,

aguas, aire en ciertos alimentos y muchas de ella siendo parte de la biota natural de la piel y membranas mucosas en los humanos y otros mamíferos, (Vasquez & Sobel, 2011).

1.5.1. Morfología.

Es un hongo con sus formas largas de pseudohifas, ya que es dimorfo y blastoconidios, fermentadores de azúcares. Redondo unicelulares u ovaladas, de crecimiento rápido, sus colonias cremosas o pastosas.



Gráfico II. Crecimiento de *Candida albicans* en Agar papa dextrosa a 37°C.

1.5.2. Clasificación taxonómica

- ✓ **Reino:** Fungi
- ✓ **División:** Deuteromycota
- ✓ **Clase:** Blastomycetes
- ✓ **Familia:** Cryptococcaceae
- ✓ **Género:** *Candida*
- ✓ **Especie:** *albicans*

Estos microorganismos se los ha clasificado como Levaduras del Phylum Ascomycotina , del genero *Candida*, de las cuales hay más de 150 especies identificadas, de las más reportadas como patógenas tenemos unas 17 especies, siendo la más típica causante de enfermedades agudas y crónicas, la

Candida albicans entre un 50% y 70% de frecuencias sobretodo la serotipo B, le sigue la *Candida tropicalis* y la *Candida parapsilosis* que están entre el 15% y el 30% de más frecuentes en las enfermedades y las menos presentes tenemos a las *Candidas krusei* y la *dublinsiensis* en relación menor al 1% de los casos clínicos más frecuentes, (Vasquez & Sobel, 2011).

La especie *Candida* se la puede identificar al presentarse como una levadura mitospórica de forma alargada y algo redondeado, midiendo entre 2x6 o 3x9 um. Su reproducción es por gemación y al ser una levadura forma las hifas, (Vasquez & Sobel, 2011).

1.5.3. Epidemiología.

Producen la enfermedad llamada Candidiasis, siendo los casos de tipo superficial las más comunes o típicas, tiene relación con problemas en la hidratación y cambios en el pH de la piel, boca , faringe y otros tejidos superficiales, es de fácil tratamiento y que por lo general no son causantes de la muerte de los pacientes, no así los casos de tipos sistémicas que son invasivas que pueden ser agudas o crónicas y que si pueden causar la muerte del paciente, todo esto se relaciona con que el sistema inmune se encuentra reprimido en estos pacientes, por lo que se llega a observar en pacientes que tienen el VIH avanzado hasta en el 1%, (Rojas & Bonifaz, 2016).

Así también se ha demostrado que no existe relación con la edad, raza o sexo, salvo que se trate de la Candidiasis urogenital que es más frecuente en las mujeres que en los hombres, pero si existe una relación directa con el tipo de actividad o trabajo que se esté realizando porque puede favorecer su desarrollo por lo que son oportunistas, (Rojas & Bonifaz, 2016).

1.5.4. Formas clínicas.

1.5.4.1. Bucal.

La más común es la seudomembranosa que se presenta en los neonatos y ancianos, se lo encuentra por lo general presente en lengua, carrillo y paladar en una capa blanca, adherente y membranosa causante de dolor, pérdida del sentido del gusto y ardor entre otros síntomas, (Vega & Vargas, 2013).

Se observa la estomatitis hipertrófica que es frecuente en aquellas personas que usan dentadura postiza siendo algunos de los síntomas: la lengua fisurada, gingivitis y algunas hemorragias en las encías, (Vega & Vargas, 2013).

1.5.4.2. Intertriginosa.

Está presente en los pliegues de tejido epitelial que cuelgan en los individuos obesos, se lo identifica porque presenta descamaciones finas, fisuras, pústulas o vesículas, (Lung, 2016).

1.5.4.3. Vulvovaginitis.

Se manifiesta en los ciclos menstruales y en el embarazo por lo que se presenta en el 75% de las mujeres en edad reproductiva, produciendo eritema intenso en la vulva y la mucosa vaginal que se pueden extender hasta el periné, los síntomas son: prurito, sensación urente, disuria y dispareunia. Siendo los pacientes con VIH positivo las que más frecuentemente vuelven a recaer, (Lung, 2016).

1.5.4.4. Balanitis.

Se presenta de forma asintomática en algunos pacientes que aún no se han circuncidado, manifestándose la existencia de pápulas muy localizadas, el glande se presenta eritematoso y con dolor que pueden llegar a ser crónicos, (Lung, 2016).

1.5.4.5. Candidiasis por el pañal.

Se produce debido a que no hay un cambio de pañal a tiempo y la piel en contacto con la orina producen unas placas eritematosa, con presencia de descamación, pápulas y pústulas que en algunos casos se combina con la presencia de bacterias, (Husein Husein-El Ahmed, 2012).

1.5.4.6. Onicomycosis y perionixis.

Es una infección que se presenta en la uña, en donde el ataque por *Candida* se combina con otros tipos de hongos, produciendo en la uña edema, dolor y exudado.

1.5.4.7. Esofagitis.

Es muy común en pacientes que padecen del VIH y los síntomas son: náuseas, disfagia, vómitos, hematemesis y dolor retroesternal. También puede presentarse asintomática y se lo diagnostica por medio de una endoscopia en donde se comprueba las lesiones porque aparece una forma de empedrado.

La Candidiasis es común su presencia en pacientes que son VIH positivos en donde suelen estar atacando los diversos órganos como por ejemplo los intestinos en donde por medio del análisis de la heces se encuentran colonias de levaduras superior al 70%, produciendo diarreas, fiebres, etc. También atacan la región pulmonar causando cuadros muy severos de bronquitis y neumonías, esta última puede causar hasta la muerte del paciente, (Cervera, 2012).

1.5.4.8. Endocarditis.

Se manifiesta generalmente en pacientes que reciben nutrición parenteral debido a la infección de las válvulas cardíacas o si el paciente ha sido operado a corazón abierto, también se presenta en individuos que son drogodependientes por vía venosa en donde se puede presentar una endocarditis fúngica, (Cervera, 2012).

1.5.4.9. Tracto urinario.

Hay mayor riesgo de padecer esta infección por el uso de sondas urinarias y el porcentaje de infección llega al 11% de los casos en que las *Candidas* estén presentes, los síntomas más frecuentes son: fiebre, dolor en el flanco, anuria hasta el fallo renal. En las mujeres la vaginitis se la relaciona con la presencia de las *Candidas*, (Javier Pineda-Murillo, 2017).

1.5.4.10. Sistema nervioso central.

Su afectación es directamente a las meninges y al parénquima produciéndose unos microabscesos en ambas partes en donde la autopsia revela que la muerte se debió a un aumento de la tensión intracraneal y baja de glucosa, (Pemán y Zaragoza, 2012).

1.5.4.11. Peritonitis.

Se presenta por lo general en pacientes que se someten a diálisis peritoneal continua ambulatoria y en aquellos que se les ha practicado una cirugía al

intestino. Esta peritonitis es causado en la mayoría de las veces por la *Candida albicans*, (Pemán y Zaragoza, 2012).

1.5.4.12. Ocular.

Se manifiesta en pacientes que han sido sometidos a cirugías y los que sufren de endoftalmitis, los síntomas son: dolor ocular, visión borrosa, etc. Pueden producir hasta la ceguera, (Pemán y Zaragoza, 2012).

I.6. Tratamientos.

Los tratamientos pueden ser de tipo tópico en muchos de los casos la simple aplicación de ciertos productos van a producir un alivio o mejora en el paciente hasta la cura total como es el caso de la aplicación del vinagre blanco diluido, la solución saturada de bicarbonato de sodio, el colorante violeta de genciana, algunos fármacos como la Nistina, Imidazoles como el Ketoconazol, Clotrimazol y el Econazol, (Pemán y Zaragoza, 2012).

Otros casos requerirán de tratamientos sistémicos por medio de: Terbinafina, Itraconazol, Fluconazol, Anfotericina B, Campofunginas, Voriconazol, Posaconazol, etc. Todos estos fármacos se deben de usar a través de un control realizado por un especialista debido a que los compuestos azólicos pueden originar infecciones más severas y resistentes como es el caso de *Candidas krusei* y *Candidas glabrata*, (Pemán y Zaragoza, 2012).

I.7. Metabolitos secundarios.

Todos los seres vivos tienen presencia metabólica en sus órganos. Una serie de reacciones químicas se encuentran en el interior de una célula de estos seres vivos. En cambio en células vegetales se divide en primario y secundario, (García & Solís, 2016).

En las células vegetales primarios poseen procesos metabólicos en la cual tenemos la respiración, transpiración y el transporte de enzimas en la actividad celular vegetal en todo ser vivo, (Taiz & Zeiger, 2006).

Los metabolitos secundarios poseen actividad biológica de moléculas muy pequeñas, ya que es un producto natural que se restringe la existencia de una sustancia determinada. Como resultado beneficioso en la clasificación de especie o familia, estos metabolitos tienen su función metabólica indirecta, (Rivas & Oranday, 2016).

En las células vegetales secundarios poseen gran cantidad de principios activos llamados compuestos químicos limitados de fuentes específicas más complejas, (Taiz & Zeiger, 2006).

Las plantas suelen defenderse frente a herbívoros, en la cual tienen un mecanismo de defensa mecánicos como químicos. Tenemos a las hojas resbaladizas, que el insecto fácilmente se puede resbalar y las defensas químicas en que las plantas se defienden de ciertos animales que comen en exceso: oxalato, Terpenoides, taninos, alcaloides, saponinas entre otros, (Miles, 2015).

Se sospecho desde hace mucho que son procesos metabólicos, sin embargo esta sustancia activa se usa como medicinal hasta su uso en venenos y otros componentes. Los metabolitos secundarios estudia la actividad biológicas de una investigación de uso beneficioso con plantas con propiedades terapéuticas, (Rivas & Oranday, 2016).

Los metabolitos secundarios no son comunes en las plantas, pero los procesos fundamentales de la fotosíntesis proporcionan biosíntesis a las células vegetales, (Vargas, 2002).

El estudio de metabolitos secundarios se inicio al crecimiento de métodos en la investigación, para la técnica espectroscópica que da información en su estructura molecular y la técnica cromatográfica es una separación de mezclas que ayuda a la rama de la química, (Rivas & Oranday, 2016).

Se descubrió recientemente que los metabolitos secundarios cumplen un cargo muy importante contra predadores perjudiciales, la sustancia que provoca efectos sobre otras plantas son agentes alelopáticos. Se ha desarrollado también en busca de nuevos antibióticos con diversas series de plantas con sus actividades biológicas, (Rivas & Oranday, 2016).

En los insectos invertebrados rara vez producen estos metabolitos secundarios, es decir solo en determinadas especies ya sea insectos o animales para que coman sus frutos y puedan esparcir sus semillas en función determinada, (Rivas & Oranday, 2016).

La mayoría de las plantas juegan un papel importante son usados para insecticidas, estos son obtenidos de plantas raras que a la final llegan a ser métodos biotecnológicos. Los científicos se concentran en aumentar la fabricación de metabolitos secundarios en diferentes plantas, (Rivas & Oranday, 2016).

Los organismos vivos como los hongos, bacterias y las plantas actúan como intermediarios que juegan un papel importante en las reacciones de diferenciación celular con productos de reservas, algunos metabolitos secundarios tienen la cabida de disminuir el crecimiento de estos microorganismos, (Rivas & Oranday, 2016).

En la clasificación de este metabolito se lleva a cabo en varios grupos en la estructura dando lugar a la biosíntesis. Los metabolitos secundarios se clasifican en terpenos, Terpenoides, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados, todos estos compuestos es a partir del dióxido de carbono, (Rivas

& Oranday, 2016).

La mayoría de plantas con metabolitos secundarios casi algunos no producen estos compuestos biosintéticos. Entre las propiedades de las cumarinas se tiene que es antimicótica y antibacteriana y los compuestos que pertenecen al grupo de los alcaloides es eficaz en la eliminación de microorganismo patógeno. Los metabolitos secundarios contribuyen en la respuesta de la planta contra el ataque de microorganismo, (García & Solís, 2016).

Es una respuesta adecuada de vida y de procesos secundarios que solo se activan mediante la inhibición del crecimiento contra ataques microbianos, (Miles, 2015).

I.8. Pruebas químicas preliminares.

Para esta clase de estudios preliminares se utilizan muestras de 1 a 1000 gr, para que se logre una orientación para su posterior identificación cualitativa y luego cuantitativa de todos los principios activos presentes en la muestra.

Los métodos podrían ser:

- a) Histológicos, en lo que se observa las reacciones de muestras de tejidos en contacto con los reactivos específicos, dando como resultado la formación de colores con precipitados.

- b) Químicos, es cuando se trata a los extractos con agentes cromógenos o sustancias que por lo general resulta en unos precipitados, etc.

- a) Fisicoquímicos, se aplica la técnica de la cromatografía.

b) Biológicos, que es cuando se observa los efectos que experimenta los extractos en presencia de cultivos de microorganismos como es en grupo de ratones, de embriones, de tejidos, etc., (Marcano & Hasegawa, 2002).

Las pruebas fitoquímicas son técnicas muy importantes contra las enfermedades. Los carotenoides, isoflavonas, catequina, antocianina, son fitoquímicos que le dan aroma y colores a más de veinte mil especies de plantas, (Shinya, 2013).

En la práctica rutinaria existe la ventaja al utilizar todos o varios de los métodos arriba mencionados. Pero está recomendado el verificar: el comportamiento de los reactivos y la reproductividad de las limitaciones de las técnicas utilizadas, por medio del uso de reactivos y extractos que van hacer de testigos. Y se debe tener presente que una técnica es válida solo si se conoce la especificidad de la reacción, (Marcano & Hasegawa, 2002).

Estas plantas le dan vida a nuestro organismo para así neutralizar todo tipo de dolencia que a su vez lo convierte en dióxido de carbono, (Shinya, 2013).

Estos fitoquímicos provenientes de plantas nos protegen contra cualquier microorganismo extraño o radicales libres, que al ingerir nos proporciona un buen funcionamiento al organismo, (Shinya, 2013).

Estas pruebas fitoquímicas nos favorece en la búsqueda de nuevas propiedades biológicas que fomenta la salud conteniendo sustancias curativas, (Bartimeus, 2014).

Los flavonoides destruyen toda clase de enfermedades y detienen el crecimiento de estas, (Martin, 2014).

1.8.1 Marcha Fitoquímica preliminar.

Para la Marcha Fitoquímica preliminar existe una amplia gama de métodos para lograr la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos, basándose en la extracción de estos con los solventes apropiados y en la aplicación de pruebas de coloración, como son para la determinación de alcaloides, saponinas, flavonoides, antraquinonas, triterpenos y/o esteroides, etc, (García & Solís, 2016).

1.9. Extracto.

Se llaman extractos a las preparaciones de consistencia líquida (extractos fluidos y tinturas) o semisólida (extractos blandos o densos), o sólida (extractos secos), que se han obtenido a partir de tejidos vegetales o tejidos animales en condiciones secas, (García & Solís, 2016).

Los extractos pueden ser de naturaleza diversos. Por lo que se llaman extractos ajustados, a los encontrados en un rango de tolerancia aceptable en relación al contenido de metabolito con conocida actividad terapéutica, (García & Solís, 2016).

En cambio los extractos llamados estandarizados se obtienen por el ajuste del extracto con reactivos inertes o por la mezcla de varios lotes de extracto, se conocen como los extractos cuantificados a los ajustados a un rango definido de constituyentes. Los ajustes se lo hacen mezclando lotes del extracto o añadiendo material específico, (García & Solís, 2016).

Otros extractos se los define en relación al proceso de producción como es el estado del tejido vegetal o tejido animal a ser extraído, por el solvente, por las condiciones de la extracción y sus especificaciones.

Usualmente los extractos se han de preparar aplicando los métodos apropiados, por lo general se ha de usar el etanol u otro solvente adecuado o también una mezcla de dos diferentes lotes de tejido vegetal o tejido animal antes de su extracción. La droga vegetal o tejido animal a ser extraído han de pasar por un tratamiento preliminar, por ejemplo, inactivación de enzimas, molienda o trituración. Al mismo tiempo que las materias indeseables deben ser eliminadas antes de la extracción, (García & Solís, 2016).

Para la preparación de los diferentes extractos de los tejidos vegetales o animales en contacto de solventes orgánico, estos deben de cumplir con las normas vigentes en la farmacopea. En la situación que se presenten los extractos que sean de naturaleza densas y secos se debería de eliminar el solvente orgánico por evaporación, se puede usar solvente recuperado o reciclado, pero el procedimiento de recuperación ha de ser controlado para que el solvente cumpla los patrones apropiados antes de ser nuevamente usado o para la mezcla con otros materiales usualmente aceptados, (García & Solís, 2016).

En las extracciones con un solvente conocido se conduce a las proporciones típicas de un constituyente caracterizado en la materia extraíble. Pero durante el proceso de estandarización y cuantificación, se pueden aplicar procedimientos de purificación para incrementar estas proporciones en relación al valor esperado, a estos extractos se los conoce como “refinados”, (García & Solís, 2016).

1.9.1 Obtención de extractos.

Normalmente todas las plantas tiene unas mezclas de compuestos denominados bioactivos como los lípidos, grasas, fitoquímicos, fragancias, pigmentos y sabores que son muy útiles a nivel de la agroindustria alimentaria y no alimentaria, en la industria farmacéutica y en la industria cosmética. Para lograr separar estos compuestos (solutos) de la fase sólida, generalmente se pone en contacto con una fase líquida, ambas fases entran en contacto íntimo

con los solutos se difunden desde el sólido a la fase líquida, lo que permite una separación de los componentes de su estructura natural original, (Geankoplis, 1999).

Los extractos es una mezcla de soluciones fitoquímicas de plantas terapéuticas en la cual se obtiene por medio del método de maceración, filtración, usando diferentes solventes (agua destilada, alcohol, etc.), a partir de plantas secas, (Bagué & Álvarez, 2012).

Para la trituración del vegetal es con el fin de reducir las partículas que al empapar la muestra triturada con el disolvente se inicia el proceso de maceración un tiempo determinado hasta llegar a que se concentre la muestra dependiendo del vegetal, la filtración tiene como objetivo separar el residuo que queda y quedaría la solución clarificada, (García & Solís, 2016).

I.10. Métodos de extracción.

Si se usan los métodos tradicionales de extracción se va a necesitar de mucho tiempo y de grandes cantidades de solvente. Por lo que dichos métodos son basados en la selección del solvente asociado, con el uso de calor y/o agitación e incluyen el soxhlet, la hidrodestilación y maceración mezclada con agua, alcohol o grasa caliente, (Luque & Garcia, 1998).

Se permite la extracción y la concentración de estos metabolitos secundarios en aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética, alimenticia.

Existen métodos de extracción y la selección de este dependerá de la acción terapéutica del vegetal que se extrae y finalmente para llegar a un producto determinado, (García & Solís, 2016).

Cuando se está en presencia de mezclas sólidas es posible utilizar algunas

técnicas de separación como son: disolución, lixiviación y extracción. Dichas técnicas necesitan de la aplicación de un solvente que sea selectivo para lograr separar uno o varios de los componentes. Pero si la mezcla sólida está constituida de varias partículas de diferente tamaño se debe de usar el tamizado, (Gennaro, 2003).

Se debe separar, si hay mezclas heterogéneas en el caso de sólido – líquido, se aplicaría la técnica de filtración, centrifugación o decantación, (Gennaro, 2003).

La maceración es una técnica de extracción para extraer principios activos de un sólido a un líquido, agregando un solvente ya sea agua destilada o etanol (Rivas & Oranday, 2016) por un tiempo determinado por 7 días al ambiente sin exponer a la luz solar, esto es una maceración simple, (Ramírez, 2017).

I.11. Filtración al vacío.

Es un método de separación de sólido a líquido, se ubica un embudo Buchner con el papel filtro recortado en círculo al fondo sobre un matraz kitasato, se emplea con una bomba un vacío que absorbe la mezcla quedando atrapado el sólido en el papel filtro y el líquido queda en el fondo del recipiente, (Filtración, 2016).

En esta técnica se basa en un proceso más rápido, en donde se usa un embudo Buchner, que está formado por una placa con huecos para soportar el papel de filtro. Estos embudos Buchner pueden tener las siguientes presentaciones como de porcelana, vidrio y plástico, (Giraldo, 2009).

El papel filtro que se vaya a aplicar en el embudo deberá de ser recortado cuidadosamente y puesto en el embudo de tal forma que vaya a tapan la

totalidad de los huecos y verificar que no quede levantado en las paredes. Se debe mojar el papel con agua destilada para fijarlo en su lugar.

El embudo está provisto de un anillo de caucho que encaja perfectamente en la boca de un Erlenmeyer de tubuladura lateral, (Gennaro, 2003).

Se fundamenta en que la fuerza impulsora del líquido, atraviese el filtro debido a la presión atmosférica aplicada al sistema. La ventaja que se tiene es que el método es rápido y también permite la filtración de aquellas suspensiones en las que la fuerza de gravedad no es suficiente para el proceso, (Gennaro, 2003).

I.12. Análisis fitoquímico.

El objetivo del análisis fitoquímico es la determinación de los metabolitos secundarios que se encuentren presentes en la especie vegetal a estudiar, tipo de tejido a estudiar como por ejemplo en las plantas medicinales, que se usa para ello un protocolo de técnicas de extracción, de separación y purificación y de determinación estructural (UV), (Giraldo, 2009).

Se recomienda el estudio fitoquímico para determinar nuevas propiedades biológicas de dicha planta, (Guerrero & caballero, 2013).

Los alcaloides lo conocemos por sus propiedades benéficas, los flavonoides son los responsables de las coloraciones, ayudan a las plantas al crecimiento y destruyen las células cancerígenas, (Guerrero & caballero, 2013).

Estos alcaloides son almacenados en cualquier parte de una planta ya que se encuentra en sales de ácidos orgánicos y estimula el sistema nervioso central, también actúa como inhibidor, (Rivas & Oranday, 2016).

Para la identificación de alcaloides, el dragendorff la prueba es positiva, sin embargo aparece un precipitado de color marrón o naranja, el Wagner la prueba es positiva, sin embargo aparece un precipitado de color marrón, mayer la prueba es positiva, sin embargo aparece un precipitado blanco, amarillo claro y marrón, (Ramírez, 2017).

Para la identificación de flavonoides, es la prueba de shinoda da positivo y una coloración naranja o violeta, (Ramírez, 2017).

Para la identificación de carbohidratos con la prueba de fehling A y B da positivo y un precipitado color ladrillo, la prueba de molish es positiva y aparece un anillo de color púrpura, (Ramírez, 2017).

Las naftoquinonas son los responsables de la actividad antimicrobiana y antileucémicos, los taninos son usados para curtir cueros, en la cual inhibe diferentes enzimas, (Guerrero & caballero, 2013).

Las saponinas tienen actividad anticancerígenas y antimicrobiana, las cumarinas son fotosensibilizantes, sedantes, antihelmínticos, antifúngicos, dichas propiedades son benéficas, (Guerrero & caballero, 2013).

En saponinas es una prueba de agitación vigorosa durante ciertos minutos y aparece la formación de espuma, si persiste de más de 10 minutos es positiva y las cumarinas es la prueba del hidróxido de sodio al 10%, si es positiva da una coloración amarilla, (Ramírez, 2017).

I.13. Tamizaje fitoquímico.

El tamizaje fitoquímico o también llamado screening fitoquímico es una de las

etapas iniciales de la investigación fitoquímica, es decir es lo primero que se debe hacer cuando estamos en presencia de una muestra vegetal que queremos identificar porque permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y después se puede orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés, (Sharapin, 2000).

Para el tamizaje fitoquímico se debe seguir una marcha fitoquímica con reactivos vigentes para la identificación de metabolitos secundarios, (Rivas & Oranday, 2016).

El tamizaje fitoquímico nos ayuda para la división y purificación de compuestos sintetizados mediante análisis para determinar una actividad a dicha planta para el uso medicinal, (Rivas & Oranday, 2016).

El screening se caracteriza por presentar reacciones rápidas y sensibles, también se necesita de poca cantidad de reactivo y de la muestra a estudiar. También se aplican reactivos específicos para la determinación cualitativa de metabolitos secundarios sensibles, y esto va a depender de la cantidad de este metabolito presente en el tejido de la planta.

El reporte se lo deberá hacer en el caso de ser positivo con una cruz y si estamos en presencia de altas concentraciones de este metabolito secundario se reportará con varias cruces, pero si es negativo se reporta con un menos (Pesantes, 2011).

Para la marcha fitoquímica se analiza la muestra seca o molida con determinadas prueba de alcaloides, saponinas, flavonoides, glucósidos, taninos, etc, (García & Solís, 2016).

Se fundamenta en la extracción de la planta con uno o varios solventes apropiados para luego poner estas extracciones en contacto con reactivos

conocidos que van a dar como resultado cambios de color y precipitación.

Estos cambios suelen ser rápidos por lo que su evaluación ha de ser rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo que sería lo ideal.

Estos resultados del tamizaje fitoquímico son únicamente la orientación y debe de interpretarse en conjunto con los resultados del screening farmacológico, (Sharapin, 2000).

Como ejemplo se tiene que cuando la planta estudiada revela acción sobre el Sistema Nervioso Central, ocurre que durante el tamizaje farmacológico hay la presencia de alcaloides en el tamizaje fitoquímico y es muy probable que su acción farmacológica sea por la presencia de la fracción alcaloidal.

De igual forma, si se evidencia la acción anti-inflamatoria en el tamizaje farmacológico y la presencia de flavonoides en el tamizaje fitoquímico, se debe de aplicar procesos de aislamiento y sometimiento a pruebas más específicas de estos compuestos (Sharapin, 2000).

I.14. Diferencia entre metabolitos primarios y secundarios.

I.14.1. Metabolitos primarios:

Son sustancias comunes esenciales de las plantas que intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas, los principales tipos de metabolitos primarios son carbohidratos, grasas, proteínas, vitaminas y minerales que se encuentran en todos los vegetales pero en diferentes proporciones, (Claramunt, Farrán, Lopez, & Pérez, 2013).

1.14.2. Metabolitos secundarios:

Son compuestos sintetizados por extracto de las plantas que no intervienen en el crecimiento, los principales tipos de metabolitos secundarios son alcaloides, cumarinas, flavonoides, glucósidos, ya que no es común casi en la mayoría de las plantas, (Claramunt, Farrán, Lopez, & Pérez, 2013).

Siempre se encuentran presente en pequeñas cantidades como los microgramos, miligramos, nano gramos o menos y no siempre todos los vegetales los tienen, se diferencian de los primarios debido a que los metabolitos secundarios tienen acción farmacológica, (Giraldo, 2009).

Como ejemplo de metabolitos secundarios tenemos Alcaloides (familia solanaceae, aponiaceae) la Vimblastina y Vincristina las cuales son alcaloides anti leucémicos, dentro de la familia Rubeaceae como la uña de gato.

Otro ejemplo de metabolitos secundarios son los aceites esenciales los cuales solo están presente en pocos grupos botánicos y en las plantas aromáticas como el mentol que proviene de la menta, el alcanfor que proviene del árbol alcanforero, el ocimeno que proviene de la vaca, el citral de la hierba luisa entre otros, (Giraldo, 2009).

I.15. Clasificación de los metabolitos secundarios.

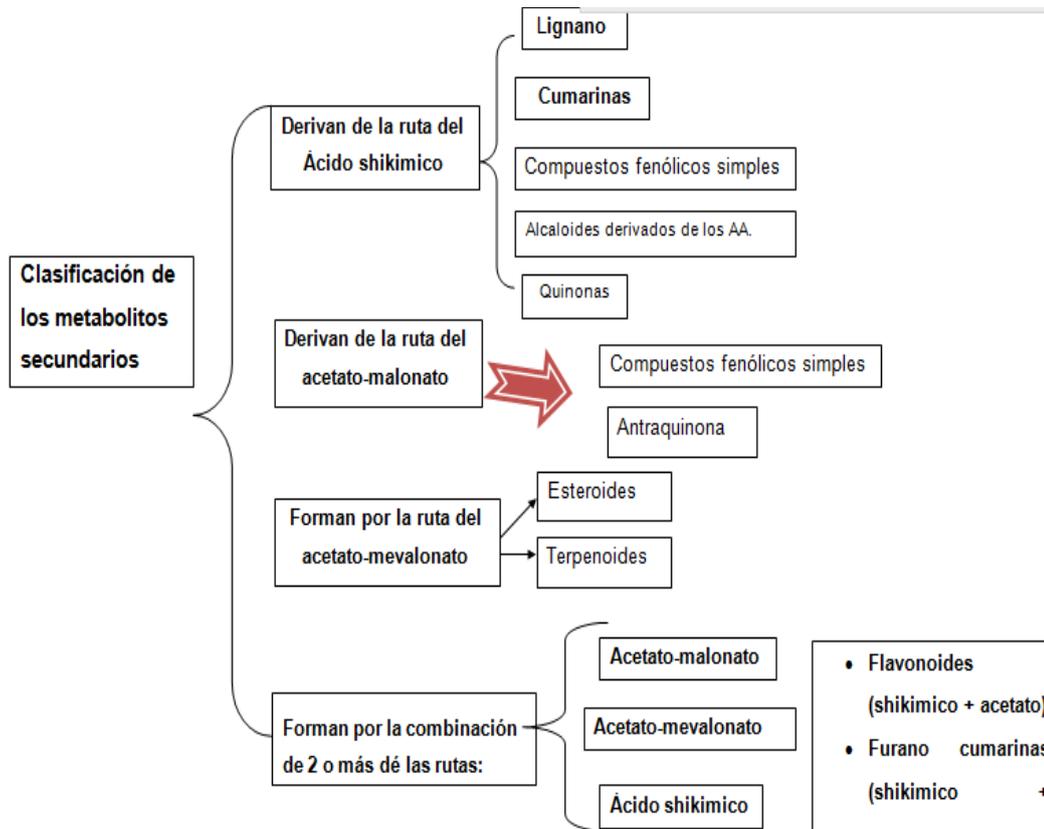


Gráfico III: Clasificación de metabolitos secundarios

I.16. Glosario.

- **Antimicótico.-** Son sustancias capaces de actuar sobre la estructura celular de los hongos causándoles la inhibición de su desarrollo, supervivencia de forma directa o indirecta.
- **Apostemas.-** Es el resultado de una inflamación e infección (pus) del tejido causado por el ataque de microorganismos y las defensas propias del huésped.
- **Blastoconidios.-** Son de origen única de cadenas de conidios del tipo holoblástico.
- **Candida albicans.-** Es un hongo que dependiendo de la temperatura puede aparecer como levadura a 37°C. o como hongo filamentoso a 25°C. Se reproduce por gemación, es parte de la biótica natural de la piel y que su desequilibrio puede causar diferentes patologías cutáneas.
- **Extractos.-** Son las diferentes técnicas de poder extraer uno varios metabolitos secundarios de una muestra vegetal o animal para su posterior estudio.
- **Halo.-** Se llama al sitio en donde se ha puesto el principio activo para comprobar su actividad frente al microorganismo que se está estudiando.
- **Fitoquímicas.-** Rama de la Química que estudia las sustancias resultantes de las diversas reacciones enzimáticas o metabolitos secundarios de las plantas.
- **Microorganismo.-** Son organismos de un tamaño muy pequeño y que solo pueden ser observados con la ayuda de un microscopio.
- **Metabolito primario.-** Son el resultados de varias reacciones enzimáticas que sucede en las vía metabólicas esenciales para el desarrollo del organismo como por ejemplo los amino ácidos, nucleótidos, etc.

- **Metabolito secundario.-** Son sustancias que no son esenciales en el desarrollo del individuo y que aparecen en condiciones determinadas.
- **Nickerson.-** Llamado también Agar Biggy, es un agar selectivo y deferencial para el aislamiento y la identificación de los hongos del genero *Candidas*.
- **Pápulas.-** Son lesiones de tipo cutáneas que se convierten luego en pústulas.
- **Pinnadas.-** Son aquellas hojas que poseen un nervio central en su base.
- **Principio activo.-**Se denomina a aquellos compuestos químicos o metabolitos secundarios que los encontramos en las diferentes órganos de la planta como pueden ser en la hojas, tallos, raíz e incluso los frutos; que van a producir una acción farmacológica en el cuerpo humano y animal.
- **Prurito.-** Llamado comúnmente comezón, es por lo general el signo de una enfermedad de origen cutánea.
- **Sensibilidad.-** Son las pruebas de validez que se hacen para diagnosticar al paciente su enfermedad o al agente que la causa.
- **Seudohifas.-** Se parecen a las hifas verdaderas pero sin conexión citoplasmática formados por cadenas de blastoconidios.

CAPITULO II. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

2.1. Tipo de Investigación.

El tipo de investigación corresponde al tipo descriptivo, correlacional.

2.2. Diseño de la investigación.

El diseño de la investigación es de tipo experimental.

2.2.1. Lugar de la investigación.

La investigación se desarrolló en:

- Laboratorios de Farmacognosia Fitoquímica y Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas en la Universidad de Guayaquil.

2.2.2. Periodo de la investigación.

El trabajo se lo realizo de Octubre a Enero del 2018.

2.2.3. Recursos empleados.

2.2.3.1. Talento humano.

- **Investigadores:** Suscal Espinoza Johan y Vite Cano Génesis.
- **Tutora:** Q.F. Alarcón Perasso María Auxiliadora. Mg.
- **Co-Tutor:** Q.F. Oswaldo Pesantes. MSc.

2.2.4. Muestra y universo.

- ***Senna pistaciifolia*** (Abejón): Actividad antimicótica

2.3. Metodología.

En este trabajo se caracteriza por la actividad antimicótica de la planta *Senna pistaciifolia* contra la presencia de *Candida albicans* (Hongo)

2.4. Recolección y selección del material vegetal.

La recolección de la planta *S. pistaciifolia* se hizo en los viveros de la ciudad de Milagros. Se seleccionó las hojas a los cuales se le practicaron los análisis fitoquímicos.

2.5. Comprobación taxonómica.

Se tomó la muestra del Abejón (*Senna pistaciifolia*), la misma que incluyo tallos con ramas, hojas, flores, frutos y semillas, luego su prensado, fue llevada al herbario GUAY de la Facultad de Ciencias Naturales, dirigido por la Dra. Carmen Bonifaz de Elao, quien certificó el ejemplar.

Herbario GUAY

Facultad de Ciencias Naturales

2.6. Secado y trituración del material vegetal.

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex. Takht.

Superorden: Rosanae Takht.

Orden: Fabales Bromhead

Familia: Fabaceae Lindl.

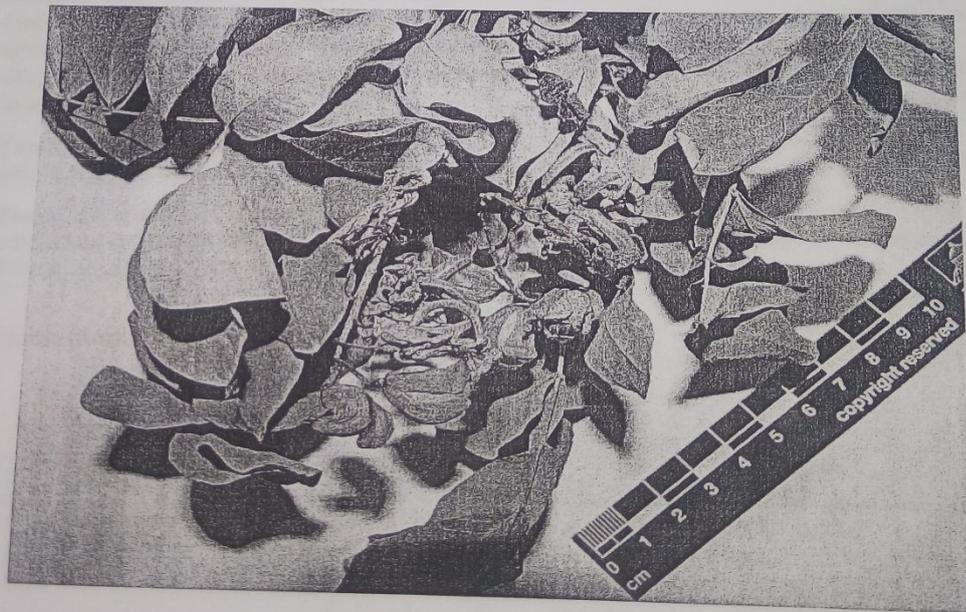
Género: *Senna* Mill.

Nombre científico: *Senna pistaciifolia* var. *picta* (G. Don) H. S. Irwin & Barneby

Nombre vernáculo: Abejón

Descripción taxonómica:

Árbol hasta 8 m de alto. Hojas alternas, paripinnadas, 20-40 cm; folíolos oblongo-elípticos, 4-6 x 2-3 cm, glabros; peciolo 5-10 cm. Inflorescencia una panícula, terminal; flores amarillas. Pétalos libres. Fruto no visto.



Av. Juan Tanca Marengo y Av. Gómez Lince s.n.
P.O. Box 09-01-10634
Guayaquil-Ecuador

Gráfico IV. Clasificación taxonómica de la planta *Senna pistaciifolia*.

2.6. Secado y trituración del material vegetal.

Una vez seleccionado el material, se envolvió en papel periódico y se puso a secar al ambiente por una semana y después se colocó en la estufa a una temperatura de 40°C durante 24 horas. Posteriormente, se trituró el material vegetal y se inició el análisis.

2.7. Factores de estudio.

Los factores de estudio de esta investigación fueron:

- Preparación de los extractos alcohólico y extractos acuoso de *Senna pistaciifolia*, y tamizaje fitoquímico.

2.8. Obtención de los extractos.

Se pesaron 50 g del material de hojas. Se obtuvieron los extractos alcohólicos de las hojas por medio del método de filtrado al vacío utilizando 350ml etanol al 70%. Se determinó taninos, glucósidos, flavonoides a partir del extracto alcohólico.

Se pesaron 50 g del material de hojas. Se obtuvieron los extractos acuoso de las hojas por medio del método de filtrado al vacío utilizando 300ml de Agua destilada. Se determinó alcaloides, saponinas, cumarinas, a partir del extracto acuoso.

2.9. Filtración al vacío.

Se dispuso de un círculo de papel de filtro de diámetro suficiente para que cubra la superficie del embudo de Büchner sin sobrepasarla. El embudo, junto con el filtro, se ajusta al matraz de Kitasato con un adaptador de goma o de

caucho, y el montaje, sujetado con una pinza unida a un soporte con una nuez, se conecta al sistema de vacío.

El filtro puede mojarse con el mismo disolvente que contiene la suspensión. Seguidamente, se vierte lentamente la suspensión sobre el filtro con la ayuda de una varilla de vidrio, de forma que no se produzca el derramamiento de líquido. El sólido retenido en el filtro puede lavarse con pequeñas porciones de disolvente (el mismo que contiene el líquido filtrado), y se dejará un tiempo conectado al vacío hasta que quede lo más seco posible.

Una vez ya obtenido el líquido acuoso y alcohólico se los traspasa en un recipiente limpio y seco.

2.10. Análisis preliminar fitoquímico.

2.10.1. Extracto acuoso.

Para el análisis preliminar primero se recoge la muestra, ya sea hoja, flor, fruto, raíz o ramas. Se trabajó con muestras secas 50 g, ya pulverizado y agua destilada unos 250ml en un recipiente limpio y seco, se dejó macerar por 24 horas. Listo para el análisis preliminar, a continuación las determinaciones:

2.10.2. Determinación de alcaloides.

Se comienza a pulverizar la muestra seca, colocando de 5 a 10 g de la muestra más 8-15 ml de agua destilada, luego a filtrar, del mismo extracto se empieza a sacar las alícuotas para las pruebas siguientes:

A cada uno de los cuatro tubos se le añade 1 ml del extracto acuoso + 2 gotas de CIH al 5 %, se homogeniza y se le agrega 1 gota de:

- **Reactivo de Dragendorff:** Se observa un precipitado anaranjado marrón (2-4 gotas) (reactivo específico para alcaloides).
- **Reactivo de Wagner:** Se observa un precipitado flatulento marrón.

- **Reactivo de Bouchardat:** Se observa un precipitado marrón.
- **Reactivo de Mayer:** Se observa una opalescencia blanca.

2.10.3. Determinación de saponinas.

Para la determinación de saponinas se agrega 3 ml del extracto acuoso y agitar por 6 minutos, se observa la formación de espuma que indica la presencia de saponina.

Esta es otra técnica para determinar saponinas con la Reacción de Liberman-Bouchardat se agrega 3 ml del extracto, 1 gota de ácido sulfúrico y 1 ml anhídrido acético helado, 1 ml de extracto clorofórmico se formará la presencia de color entre 2, 5, 20, 60 minutos realizada la mezcla.

2.10.4. Determinación de cumarinas.

En un tubo de ensayo 2 a 3 ml de extracto acuoso se cubre el tubo con un papel filtro humedecido en solución de Na (OH) al 10%; secar el papel filtro y amarrar con una liga en el tubo.

Se colocó en Baño María por varios minutos (5-7), después se retiró el papel filtro del tubo y se lo expone a luz UV. Se forma la presencia de una fluorescencia amarilla verdosa.

3.4 Extracto alcohólico.

Se pulverizó la muestra vegetal, se añade de 5-10 g de la muestra más 8-15 ml de alcohol, luego se comienza a filtrar, en el mismo extracto se empieza a sacar las alícuotas para las pruebas siguientes:

2.10.5. Determinación de taninos.

2.10.8. Determinación de glucósidos cianogenéticos.

2.10.8. Determinación de glucósidos cianogenéticos.

A un tubo se le añade 1 ml del extracto etanólico más 1 gota de cloruro férrico al 5 % se observa una coloración azul, verde, parda o negra.

2.10.6. Determinación de glucósidos.

a) Reacción Fehling A solución cuprosa y Reacción Fehling B solución alcalina.

Se añade 2 ml del extracto y se le agrega 1 ml de Fehling A y 1 ml de Fehling B. Se lleva a Baño María y se formará un precipitado color ladrillo si es positivo, si se mantiene azul es negativo.

2.10.7. Determinación de glucósidos cardiotónicos.

Se añade 2 ml del extracto alcohólico y después 1 ml (20 gotas) del reactivo de Benedict. Se lleva a Baño María y se formará un precipitado color amarillo si es positivo, si se mantiene azul es negativo.

Reactivo de Legal.

Se le añade 2 ml del extracto etanólico se le agrega de 2 a 3 gotas de piridina más solución de nitro prusiato de sodio al 25% en agua y luego de 1 a 2 gotas de Na (OH) 2 N. Se observa un color rojo intenso.

Reactivo de Raymond.

Se le añade 2 ml del extracto alcohólico se le agrega de 5 a 8 gotas de etanol al 50% a continuación 1 a 2 gotas de solución de meta dinitro benceno y se adiciona 2 a 3 gotas de Na (OH) al 20%. Se forma un color entre violeta y azul.

2.10.8. Determinación de glucósidos cianogénicos.

A 2 ml del extracto alcohólico se lleva a ebullición con CIH al 5% cuantas más gotas, se prueban con papel pricosodado, se observa si hay cambio de coloración en el papel. Se puede tapar el tubo de ensayo con papel para que el ácido cianhídrico liberado lo atraviese.

2.10.9. Determinación de aceites esenciales.

Para la determinación de aceites esenciales se debe triturar el material fresco. Triturar una parte de la planta fresca si hay olor los aceites esenciales se han liberado, poner de 2 a 3 g de la planta fresca triturada en un tubo y hervir con agua, observar la formación de gotas aceitosas en la pared del tubo de ensayo.

2.10.10. Determinación de flavonoides.

Reacción de Schinoda.

Se añade a un tubo 1 ml del extracto alcohólico, limaduras de magnesio y se adiciona de 4 a 5 gotas (0,5 ml) de CIH concentrado. Se formará una coloración rojas será positivo para flavonas.

- a) Una coloración roja será positiva para flavonoides.
- b) Una coloración roja intensa será positiva para flavonas.
- c) Una coloración roja será positiva para las chalconas y auronas.

2.10.11. Determinación de triterpenos.

Se añade 2 ml del extracto alcohólico evaporar a sequedad (no calcinar), luego esperar que el recipiente se enfríe y agregarle reactivo de anhídrido acético – ácido sulfúrico – cloroformo en una proporción (2: 0.1: 1.5), se formará colores rojo, rosa, púrpura o azul.

2.10.12. Determinación de antraquinona.

Se pulveriza la muestra y se lleva a macerar con 3-5 ml de benceno por 10 minutos. Luego se filtra y se le agrega 1 ml de Na (OH) al 10% por las paredes del tubo. Se forma una coloración roja o un anillo en la mitad rosado será positivo.

Reacción de Burntrager: Hervir 0.3 g de la planta pulverizada con 10 ml de K (OH) al 5% más 1 ml de Agua oxigenada al 6%, se enfría la solución, se filtra, luego del filtrado se adiciona ácido acético y benceno para extraer. Luego a 5 ml de la solución bencénica se le adiciona Na (OH) acuoso o amoniaco acuoso, se agita, y se observa una coloración roja en la capa acuosa en caso positivo.

2.10.13. Determinación de esteroides.

Se coloca una pequeña cantidad del material fresco y triturado en una cápsula, se adiciona 0.5 ml de anhídrido acético y 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado en caso positivo aparecerán coloraciones entre verde azuladas, rojas y púrpuras.

Para cada una de las reacciones, los resultados se valoraron de manera semicuantitativa en cruces de acuerdo con la apreciación de la intensidad del color, determinando así:

- Presencia escasa del metabolito secundario (+)
- Presencia moderada del metabolito secundario (++)
- Presencia abundante del metabolito secundario (+++)
- Ausencia del metabolito secundario (-)

2.11. Análisis microbiológico.

2.11.1. Actividad antimicótica por discos.

Se realizó mediante el método de difusión en disco, se utilizó papel filtro estéril, se colocó junto al extracto con las siguientes concentraciones del 75% y 100%. Se sembró el hongo *Candida albicans* en cajas de Petri que contienen el Agar papa dextrosa y se comenzó a colocar los discos con el extracto acuoso y alcohólico.

Se incubó a 24h a 37°C. Después del proceso de incubación se pudo verificar la inhibición o el crecimiento del microorganismo alrededor del disco. El diámetro de los halos se expresa en mm.

2.11.2. Determinación de sensibilidad antifúngica.

Existen dos procedimientos generales para determinar la sensibilidad de los microorganismos y estos son:

- Dilución en agar o caldo
- Difusión en agar

Fundamento.

La prueba de sensibilidad tiene como objetivo conocer si los microorganismos ensayados son sensibles o resistentes a los antimicrobianos y sirven para elegir de forma óptima el tratamiento antifúngico.

2.11.3. Técnica de la Difusión en agar con disco.

Fundamento.

Previo una preparación del microorganismo en una concentración Mac Farland 0.5, se procede a inocular el microorganismo en la superficie del agar y luego se deposita un disco con una concentración conocida de antimicótico. Después de incubar a una temperatura adecuada para el microorganismo, se produce una zona de inhibición del crecimiento del microorganismo alrededor del disco.

Dependiendo del tamaño de la zona, se obtiene resultados rápidos y muy fácil de interpretar, se puede determinar si el microorganismo es sensible, intermedio, indeterminado o resistente al antimicótico ya que los diámetros se expresan en mm.

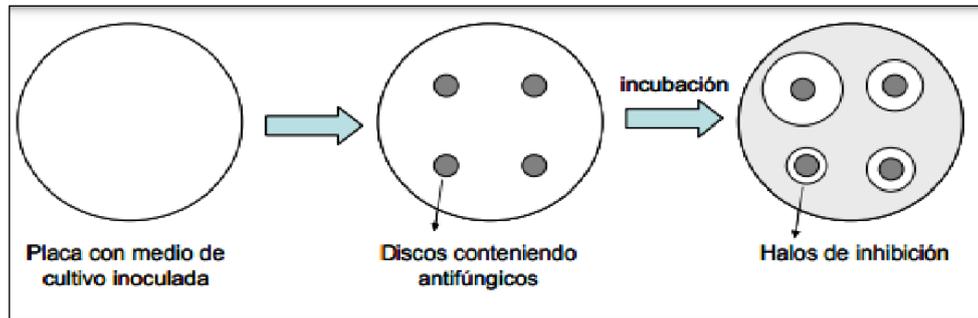


Gráfico V. Difusión en agar con disco

Materiales.

- *Candida albicans* (Hongo)
- Caja petri
- Agar Papa dextrosa
- Agua destilada estéril
- Pinzas
- Tubos de ensayo
- Hisopos
- Guantes
- Mascarilla
- Mechero de Bunsen
- Fósforos
- Papel filtro estéril
- Perforadora
- Balanza analítica
- Incubadora

- Estufa
- Autoclave

Procedimiento.

2.11.4. Preparación del inóculo

Para la preparación del inóculo se tiene que esperar 24h en Agar Papa dextrosa a 37°C. Se toma colonias del hongo *Candida albicans* de cultivo incubados y suspendiéndolas en 5 ml de solución salina estéril.

La suspensión resultante se agita durante 15 segundos y ajustar la densidad de la suspensión equivalente a 0,5 de la escala de McFarland.

2.11.5. Siembra por dispersión con hisopo.

- Se sumerge un hisopo de algodón estéril en el inóculo.
- El exceso de líquido es eliminado girando el hisopo varias veces contra las paredes interiores del tubo.
- El inóculo se extiende por toda la superficie de la placa 3 veces seguidas.
- En cada repetición, se gira la placa 60°C, de forma que se asegure la distribución uniforme del inóculo

2.11.6. Preparación de los discos de papel filtro.

Usando la perforadora, se pudo obtener la forma circular del papel filtro que a su vez se lo esterilizo y tiene un diámetro de 6 mm.

2.11.7. Colocación de los discos de antimicótico.

- Los discos de antimicótico se debe colocar no más de 15 minutos tras la inoculación de las placas, de esta forma la difusión y el crecimiento ocurre simultáneo. Se puede aplicar con la ayuda de una pinza estéril.

Los discos embebidos de cada extracto, se colocaron en la superficie del agar. La prueba se realizo por duplicado.

- Se debe colocar al menos a una distancia de 15 mm del borde de la placa y separado entre por una distancia de 24mm.

2.11.8. Incubación de las placas.

Las placas, fueron incubadas a 37°C durante 24 horas.

2.11.9. Lectura de las zonas de inhibición.

El diámetro de cada extracto se mide con un vernier.

CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

III.1. Resultados.

Actividad antimicótica.

Los resultados respecto al análisis fitoquímico preliminar, demostró la existencia de metabolitos secundario en la cual se presentan en la tabla I.

Se determinó la actividad antimicótica frente a *Candida albicans* (hongos) mediante el método de difusión de Kirby Bauer (discos).

Halos de inhibición.

Según los criterios que han sido emitidos por la Sociedad Latinoamericana de Fitomedicina en el documento que dice “Técnicas de Comprobación de la Actividad Terapéutica de las plantas Medicinales”, se indica que si el halo es mayor a 9 mm, el resultado es positivo, es decir es susceptible.

Si el halo es menor a 9, de entre 6-9 mm se considera que la actividad es intermedia o susceptible dependiendo de las concentraciones de los extractos. Si el halo es inferior a 6 mm se considera negativo o llamado también resistente; todos estos valores se aplican solamente para los extractos de origen vegetal, (Cauti, 2017).

Después del proceso de incubación se pudo observar que hay halos de inhibición de 13 mm de diámetro.

Con respecto a los flavonoides, fue el grupo de metabolitos secundarios más abundante encontrado en la planta *Senna pistaciifolia*.

Por este motivo, los extractos obtenidos con este tipo de solventes presentaron una mayor concentración de flavonoides, tal como se muestra en la Tabla 1.

Reacción o proceso utilizado	Extracto Acuoso
Prueba de alcaloides	
✓ Reactivo de Dragendorff	(++)
✓ Reactivo de Wagner	(++)
✓ Reactivo de Bouchardat	(++)
✓ Reactivo de Mayer	(++)
Prueba de saponinas	(++)
Prueba de cumarinas	(+++)
Reacción o proceso utilizado	Extracto Alcohólico
Prueba de taninos	(+)
Prueba de glucósidos	(++)
Prueba de aceites esenciales	(-)
Prueba de flavonoides	(+ + + +)
Prueba de triterpenos	(-)
Prueba de antraquinona	(-)
Prueba de esteroides	(-)

Tabla I. Determinación de metabolitos secundarios

Prueba de sensibilidad antimicótica.

Interpretación de resultados.

- Resistente (**R**)
- Intermedio/ Sensible dependiente de dosis (**S-DD**)
- Sensible (**S**)

Halo de inhibición (mm)				
<i>Candida albicans</i>	N° de repeticiones	R	S-DD	S
		≤6	6-9	≥ 9
Etílico Extracto viejo	2	-----	-----	13mm
				10mm
Etílico Extracto nuevo	2	-----	-----	13mm
				8mm

TABLA II. Prueba de sensibilidad antimicótica

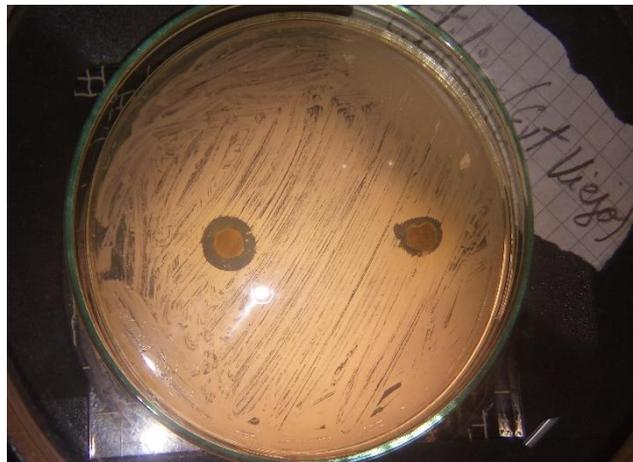


Gráfico VI. Difusión en agar con disco de sensibilidad.
Extracto Etanólico Viejo.

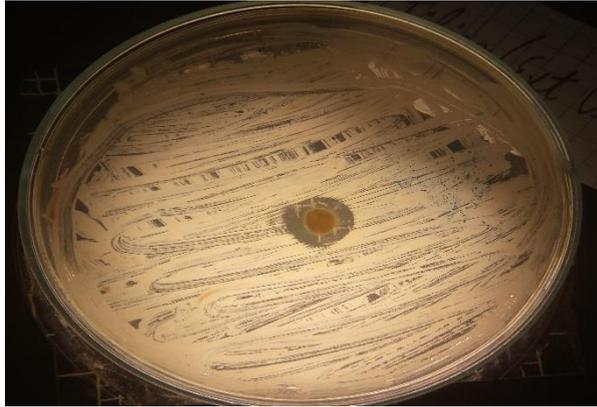


Gráfico VII. Difusión en agar con disco de sensibilidad.
Extracto Etanólico Viejo.



Gráfico VIII. Difusión en agar con disco de sensibilidad.
Extracto Etanólico Nuevo.



Gráfico IX. Difusión en agar con disco de sensibilidad.
Extracto Etanólico Nuevo.

III.2. Discusión.

En el presente análisis fitoquímico preliminar de la especie *Senna. pistaciifolia* se partió de extracto etanólico y acuoso puesto que estos solventes tiene la capacidad de extraer compuestos de una amplia gama de polaridades, además de ser menos costoso y tóxico que otros solventes orgánicos, (Sanabria, 1983).

Se permitió comprobar también la presencia de flavonoides en la especie, porque se obtuvieron resultados positivos con la Reacción de Schinoda y con la del ácido clorhídrico. Lo anterior indica la presencia de flavonoides tipo flavona, flavonol, flavanona, flavanonol, isoflavonoide y leucoantocianidinas.

En la presente investigación se determinó la efectividad del extracto seco etanólico de la *Senna pistaciifolia* frente a *Candida albicans*, el cual demostró una mayor inhibición, al presentarse como resultado un halo de inhibición de 13 mm.

Con los extractos etanólicos se encontraron valores de actividad positiva. Por consiguiente se deduce que los resultados presentados en este trabajo revelan que el extracto alcohólico de *Senna pistaciifolia* presenta efecto antimicótico frente a la *Candida albicans*.

CAPITULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

IV.1. Conclusiones.

- Las pruebas preliminares para la determinación de metabolitos secundarios en hojas de la planta *Senna pistaciifolia* fueron positivas en extracto acuoso: Alcaloides, Saponinas, Cumarinas y en extracto alcohólico fueron positivas: Taninos, Flavonoides, Glucósidos Cardiotónicos
- Se demostró con este estudio que los extractos alcohólicos de *Senna pistaciifolia* tienen actividad antimicótica comprobada a través de los análisis microbiológicos por el método de Kirby Bauer.
- Se determinó la actividad antimicótica por el método de difusión de Kirby Bauer (discos), en el extracto obtenido por maceración con concentración alcohólica de *Senna pistaciifolia*, la *Candida albicans* manifestó sensibilidad con halos de 13 mm de diámetro, lo que indica que el extracto alcohólico vegetal de la *Senna pistaciifolia* inhibe los hongos *Candida albicans*.
- Se evidencia que los extractos obtenidos por maceración acuosa presentan ninguna actividad antimicótica, los cuales no evidenciaron la sensibilidad del hongo.

IV.2. Recomendaciones.

- Se recomienda realizar más estudios de la actividad antimicótica en otros tipos de hongos y levaduras.
- Se recomienda poder comparar por el método de Kirby Bauer (discos), los resultados de estos hongos con los de la *Candida albicans*.
- Otra recomendación es poder hacer ensayos con otros órganos de la planta como la raíz, tallo y frutos para evaluar la actividad antimicótica.
- Es recomendable utilizarlo en productos a base de esta planta *Senna pistaciifolia*, ya que esto ayudaría a personas con problemas de *Candida albicans* de una forma natural.

CAPITULO V. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.

1. Pemán y Zaragoza. (2012). Opciones terapéuticas para el tratamiento antifúngico en el paciente crítico. *Revista Iberoamericana* , 108 - 113.
2. (1 de junio de 2016). Obtenido de Filtración: https://es.wikipedia.org/wiki/Filtraci%C3%B3n_a_vac%C3%ADo
3. (3 de 10 de 2017). Obtenido de Senna: [https://es.wikipedia.org/wiki/Senna_\(planta\)](https://es.wikipedia.org/wiki/Senna_(planta))
4. (2018). Obtenido de Herbwisdom: <https://www.herbwisdom.com/es/herb-senna.html>
5. (2012). En A. Bagué, & N. Álvarez, *Tecnología Farmacéutica* (pág. 370). Cuba: Club Universitario.
6. (2014). En P. Bartimeus, *100 alimentos que curan* (pág. 128). España: Penguin Random House.
7. (2012). En G. H. Campos, *Plantas que curan* (págs. 28-30). Madrid- España: Visión Libros.
8. Cauti, S. D. (2017). Determinación in vitro de la Actividad antimicótica del aceite romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Microsporum canis*. *Scielo* , ISSN 1609-9117.
9. Cervera, C. (2012). *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Barcelona - España: Elsevier.
10. (2013). En R. Claramunt, M. Farrán, C. Lopez, & M. Pérez, *Química bioorgánica y productos naturales* (págs. 348-352). Madrid: UNED.
11. (2016). En E. C. García, & I. M. Solís, *Manual de fitoterapia* (págs. 45-47). Barcelona- España: Elsevier.
12. (1999). En C. Geankoplis, *Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias* (págs. 800-801). México: Editorial Continental.
13. (2003). En A. R. Gennaro, *Remington Farmacia tomo1* (págs. 788-789). Buenos Aires- Argentina: Médica panamericana.
14. (2009). En R. D. Giraldo, *Manual de técnicas de laboratorio químico* (pág. 69). Colombia: Universidad de Antioquia.
15. Guadalupe, M., & M.G, L. (2013). *Metabolito secundario con actividad antimicótica contra hongos xilofagos*. Obtenido de

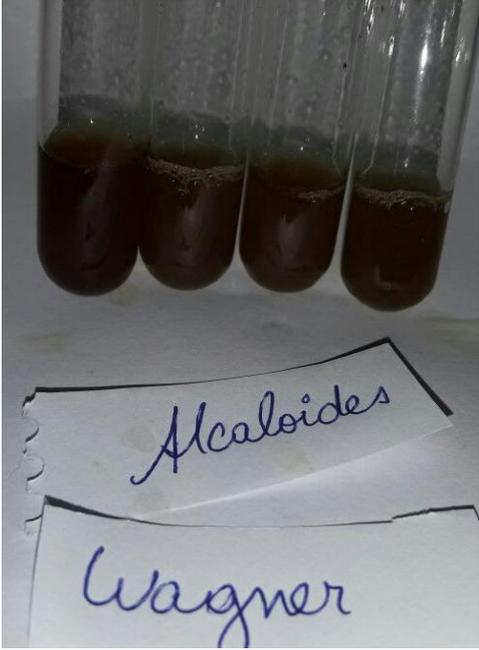
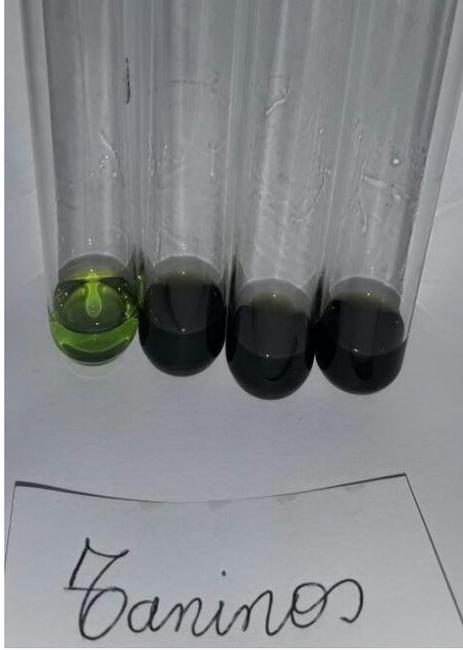
https://www.researchgate.net/publication/264896579_Metabolitos_secundarios_con_actividad_antifungica_hacia_hongos_xilofagos

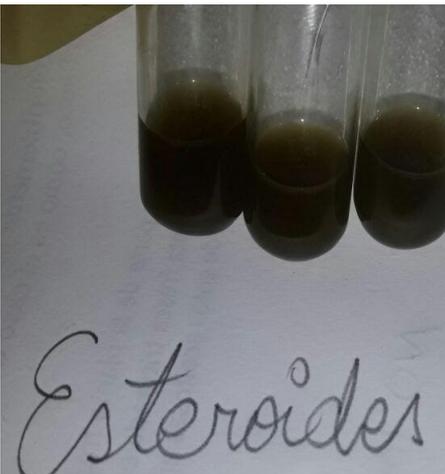
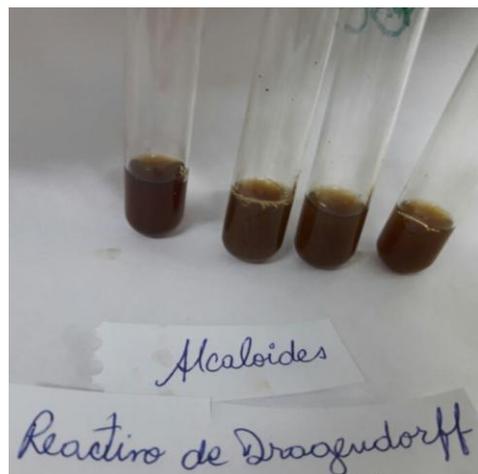
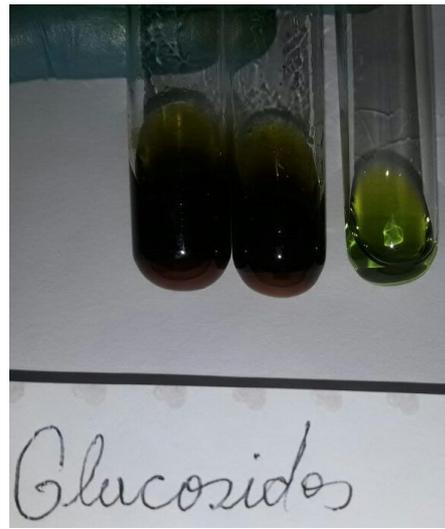
16. Guay, H. (Noviembre de 2017). Clasificación taxonómica.
17. (2013). En T. Guerrero, & R. caballero, *Análisis fitoquímico de residuos generados por la industria* (pág. 92). España: Académica Española.
18. Husein Husein-El Ahmed, G. A.-D.-C.-J.-H.-F. (2012). Candidiasis cutánea generalizada en recién nacido a término. *Biomédica* , 170 - 173.
19. Javier Pineda-Murillo, C.-F. A.-B.-O. (2017). Candidosis vaginal. Revisión de la literatura y situación de México y otros países latinoamericanos. *Revista médica Risaralda* , vol.23 no.1.
20. Lung, S. Y. (2016). Vulvovaginal candidosis: contemporary challenges and the future of prophylactic and therapeutic approaches. En f. P. *Mycology, Mycoses, Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases* (págs. 262 - 273). Oxford - UK: John Wiley & Sons.
21. M. Grandtner, J. C. (2013). *Dictionary of Trees, Volume 2: South America: Nomenclature, Taxonomy and Ecology*. Quebec - Canada: Academic Press.
22. (2002). En D. Marcano, & M. Hasegawa, *Fitoquímica orgánica* (págs. 54-60). Venezuela: Universidad Central de Venezuela.
23. (2014). En E. Z. Martin, *La batalla contra el cáncer* (pág. 234). México: Palibrio.
24. (2015). En K. Miles, *La biblia de los licuados verdes* (pág. 220). México: Grijalbo.
25. (2000). En A. Ocampo, & R. Valverde, *Manual de cultivo y conservación de plantas medicinales. Tome 1* (págs. 116-118). San José- Costa Rica: Tramil, Centroamerica.
26. Ocampo, R. A., & Valverde, R. (2014). Fenoles totales y actividad antioxidante en hojas de dos especies colombianas del género *Meriania* (melastomataceae). *Revista Colombiana de Química* , 41-46.
27. Pemán, Rafael Zaragoza y Javier. (2012). Opciones terapéuticas para el tratamiento antifúngico en el paciente crítico. *Revista Iberoamericana* , 108 - 113.
28. Pesantes, O. (2011). *Manual de Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica* . guayaquil: facultad de ciencias químicas.
29. (2017). En M. Ramírez, *Propiedades funcionales de hoy* (págs. 150-158). México: Omniascience.

30. (2016). En C. Rivas, & M. Oranday, *Investigación en plantas de importancia médica* (págs. 4, 5). México: Omnia Science.
31. (2016). En Rojas, & Bonifaz, *Superficial Mycoses Associated with Diaper Dermatitis* (pág. 191). Panama: Medical.
32. (2000). En N. Sharapin, *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (págs. 196-198). Bogotá- Colombia: Programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo.
33. (2013). En H. Shinya, *La enzima para rejuvenecer* (págs. 3-5). México: Aguilar.
34. (2006). En L. Taiz, & E. Zeiger, *Fisiología vegetal volumen 1* (págs. 530-534). Paris: Universitat Jaume.
35. *The Plant List*. (2010). Obtenido de <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=Senna>
36. *UEIA*. (2014). Obtenido de <https://catalogofloravalleaburra.eia.edu.co/especies/45>
37. (2002). En W. G. Vargas, *Guía ilustrada de las plantas de las montañas del Quindío y los Andes Centrales* (págs. 363-364). Manizales - Colombia: Universidad de Caldas.
38. Vasquez y Sobel. (2012). Fundamento de la micología clínica. En V. y. Sobel, *Fundamentos de la Micología Clínica* (págs. 167 - 206). New York: Springer.
39. (2011). En Vasquez, & Sobel, *Fundamentos de la Micología Clínica* (págs. 167 - 206). New York: Springer.
40. (2013). En Vega, & Vargas, *Las enfermedades bucales más frecuentes en pacientes VIH-positivos en la consulta privada*. (págs. 154 - 158).

CAPITULO VII. ANEXOS.

ANEXO A.
Análisis Fitoquímico
Extractos de (*Senna pistaciifolia*)

Extracto Acuoso	Extracto Alcohólico
	
 <p>Alcaloides Wagner</p>	 <p>Vanilinos</p>



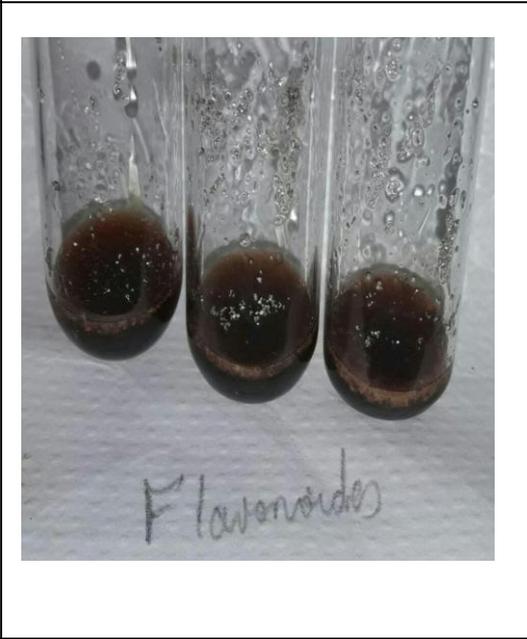
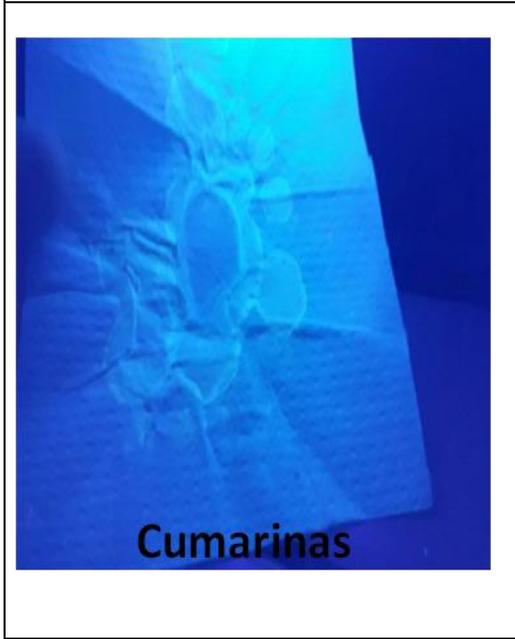
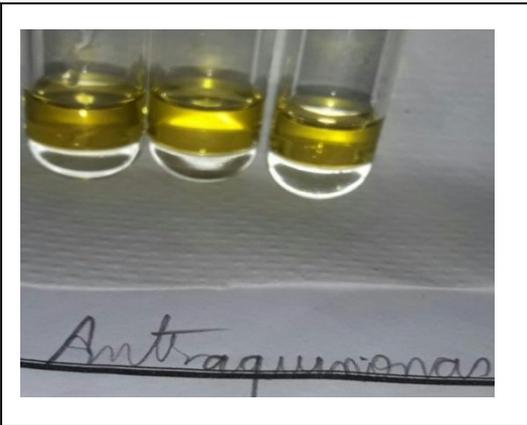




Gráfico X. Método Kirby Bauer (discos).

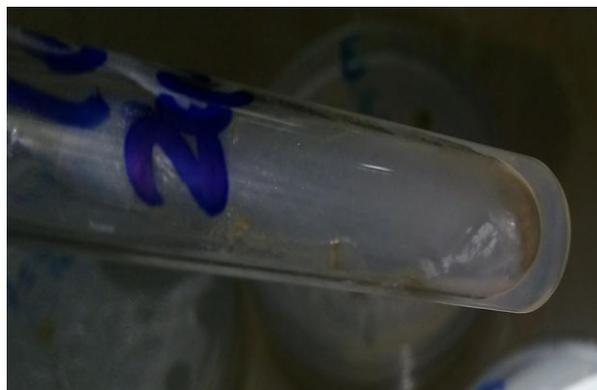


Gráfico XI. Crecimiento de *Candida albicans*



Gráfico XII. Preparaciones de diluciones.

ANEXO B.
Análisis Microbiológicos



Gráfico XIII. Papel filtro embebido de extracto *Senna pistaciifolia*

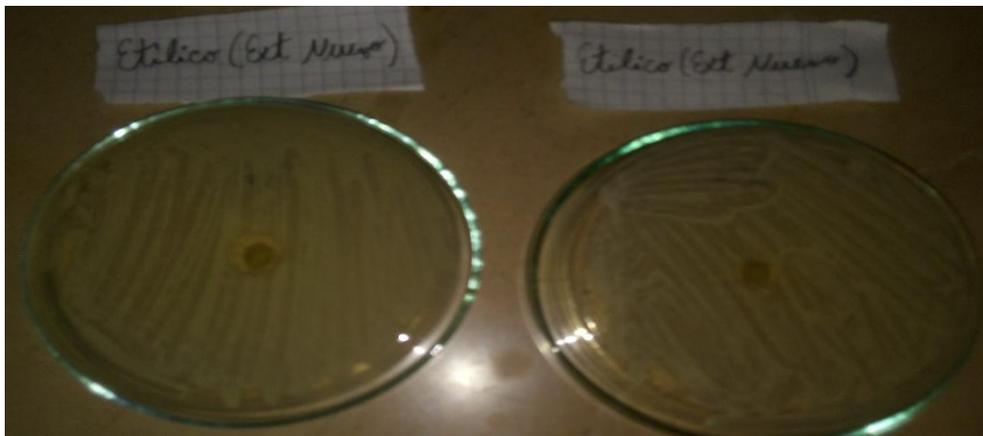


Gráfico XIV. Apreciación de Halo de inhibición
Extracto Nuevo

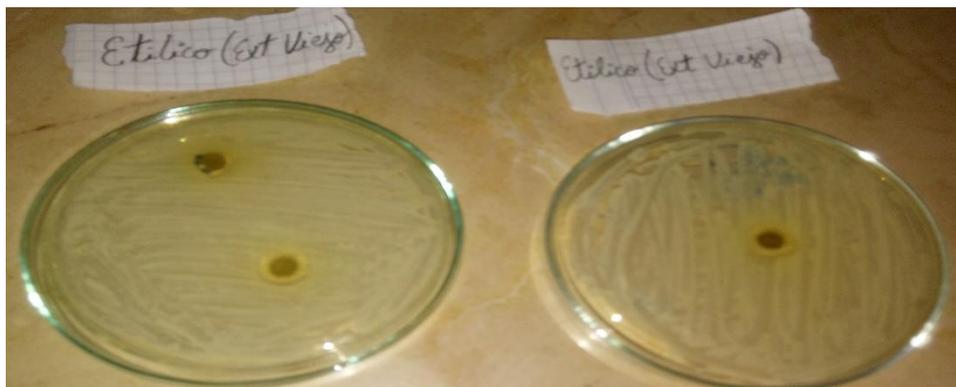


Gráfico XV. Apreciación de Halo de inhibición
Extracto Viejo

ANEXO C. MARCHA FITOQUÍMICA PRELIMINAR

