

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS  
AMÉRICAS

LICENCIATURA EN FARMACIA

EFICACIA ANTIFÚNGICA IN-VITRO DE UNA CREMA  
ELABORADA CON ACEITES ESENCIALES DE CLAVO  
DE OLOR (*SYZYGIVM AROMATICUM*) Y COCO  
(*COCOS NUCÍFERA*) FRENTE AL HONGO *CANDIDA*  
*ALBICANS* Y COMPARACIÓN DE SU EFECTIVIDAD  
CON CLOTRIMAZOL

TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
LICENCIATURA EN FARMACIA

MARÍA JOSÉ BOZA SERRANO

**Tutora:**

**Dra. Melissa Martínez Domínguez**

**Lector:**

**Dr. Esteban Zavaleta**

**San José, Costa Rica**

## Contenido

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN .....	1
Planteamiento del problema .....	1
Hipótesis .....	4
Objetivo general .....	4
Objetivos específicos .....	4
Justificación .....	5
Antecedentes.....	8
Internacionales .....	8
Nacionales.....	10
Proyecciones.....	11
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	12
Candida Albicans.....	12
Clasificación taxonómica.....	13
Patogenicidad de Candida Albicans .....	14
Propagación y transmisión.....	14
Tipos de infecciones causadas por <i>Candida Albicans</i> .....	14
Vulvovaginitis candidiásica.....	14
Fisiopatología de las infecciones vaginales .....	15
Síntomas de vulvovaginitis candidiásica.....	15
Factores de riesgo de vulvovaginitis Candidiásica .....	15
Diagnóstico y diagnóstico diferencial .....	16
Candidiasis vulvovaginal recurrente.....	17
Candidiasis vaginal en el embarazo.....	17
Candidiasis oral.....	18
.....	19
Candidiasis cutánea.....	19
.....	20
Candiduria e infección urinaria.....	20
Candidemia .....	21
Tratamiento farmacológico de vulvovaginitis candidiásica y otros tipos de candidiasis.....	21
Clotrimazol .....	22

Miconazol .....	23
Fluconazol.....	24
Nistatina .....	24
Prueba de sensibilidad a antibióticos.....	25
Reino Plantae.....	28
Características generales del Reino Plantae.....	28
Plantas Medicinales .....	29
Farmacognosia.....	29
Aceites esenciales .....	30
Aplicaciones de los aceites esenciales .....	30
Propiedades terapéuticas de los aceites esenciales.....	31
Vías de administración de los aceites esenciales .....	31
Extracción de aceites esenciales.....	32
Destilación.....	33
Extracción.....	35
Farmacoergasia .....	36
Recolección.....	37
Conservación.....	37
Desinfección.....	37
Molienda.....	37
Almacenamiento.....	38
Fitofarmacología.....	38
Fitofármaco .....	38
Clavo de olor ( <i>Syzygium aromaticum</i> ) .....	39
Taxonomía .....	40
Fuente: Elaboración propia (2017) .....	40
Hábitat.....	40
Descripción de la planta.....	40
Usos y propiedades de la planta.....	41
Aceite esencial de clavo de olor.....	42
Componentes químicos del aceite esencial de clavo de olor .....	43
Eugenol.....	44

Mecanismo de acción .....	44
Toxicidad.....	45
Coco ( <i>Cocos nucifera</i> ).....	45
Taxonomía .....	46
Hábitat.....	46
Descripción de la planta.....	47
Aceite de coco.....	48
Composición del aceite de coco .....	48
Usos industriales del aceite de coco .....	49
Usos medicinales del aceite de coco .....	50
Ácido láurico .....	51
Mecanismo de acción .....	51
Toxicidad.....	52
Espectroscopía .....	52
Espectrómetro .....	53
Espectroscopía visible.....	54
Espectroscopía infrarroja .....	55
Interpretación del espectro .....	55
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO .....	56
Enfoque.....	56
Diseño.....	56
Variables.....	57
Instrumentos .....	59
Método de destilación, extracción y aislamiento del aceite esencial de clavo de olor por medio de arrastre de vapor.....	59
Equipo y reactivos .....	59
Método .....	60
Pruebas de identificación de los componentes del aceite esencial de clavo de olor .....	63
Prueba de identificación de fenoles con Cloruro de Hierro (III).....	63
Equipo y reactivos para la prueba de identificación de fenoles con Cloruro de Hierro (III).....	64
Método para la identificación de fenoles con Cloruro de Hierro (III).....	64
Prueba de Baeyer para la identificación de alquenos .....	64

Equipo y reactivos para la prueba de Baeyer para identificación de alquenos .....	64
Método para la prueba de Baeyer.....	65
Evaluación cuantitativa del aceite esencial de clavo de olor por espectroscopía UV-Vis	65
Equipo y reactivos.....	65
Método para la preparación de la solución estándar y patrones de referencia .....	65
Método para la preparación de las muestras para la determinación de eugenol en el aceite esencial de clavo de olor .....	66
Determinación de las absorbancias de las referencias y las muestras de clavo de olor	67
Prueba de identificación del eugenol presente en el aceite esencial de clavo de olor mediante espectroscopia infrarroja .....	67
Método de destilación y extracción del aceite esencial de coco por medio de destilación Soxhlet.....	68
Equipo y reactivos .....	68
Método .....	68
Pruebas de identificación de los componentes del aceite esencial de coco.....	69
Equipo y reactivos para la prueba de identificación de yoduro-yodato para ácidos carboxílicos .....	70
Método para la identificación de ácidos carboxílicos con la prueba de yoduro-yodato	70
Evaluación cuantitativa del aceite esencial de coco por espectroscopia UV-Vis.....	70
Equipo y reactivos.....	70
Método para la preparación de la solución estándar y patrones de referencia .....	71
Método para la preparación de las muestras para la determinación de ácido láurico en el aceite esencial de coco .....	72
Determinación de las absorbancias de las referencias y las muestras de coco .....	73
Identificación del ácido láurico presente en el aceite esencial de coco por medio de espectroscopía infrarroja.....	73
Formulación de la crema a partir de los aceites esenciales de coco y clavo de olor .....	73
Equipo y reactivos .....	73
Método para la formulación.....	74
Método para el análisis microbiológico de los aceites esenciales y de la crema formulada	77
Preparación de las diluciones de los aceites esenciales .....	77
Preparación de las placas .....	77
<b>CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....</b>	<b>79</b>
Extracción del aceite esencial de clavo de olor por medio del método de arrastre de vapor	79

Identificación de los componentes del aceite esencial del clavo de olor.....	81
Prueba para identificación de fenoles con Cloruro Férrico (III) .....	81
Prueba de Baeyer para identificación de alquenos .....	82
Determinación cuantitativa del eugenol presente en el aceite esencial de clavo de olor por medio de espectrofotometría UV-Vis .....	83
Prueba de identificación del eugenol por medio de espectroscopia infrarroja .....	85
Extracción del aceite de coco por medio de destilación Soxhlet.....	87
Pruebas de identificación de los componentes del aceite esencial del coco.....	89
Prueba para identificación de ácidos carboxílicos con yoduro-yodato.....	89
Determinación cuantitativa del ácido láurico presente en el aceite esencial de coco por medio de espectrofotometría UV-Vis .....	90
Prueba de identificación del ácido láurico por medio de espectroscopía infrarroja .....	92
Formulación de la crema a partir de los aceites esenciales de coco y clavo de olor .....	94
Determinación de la concentración mínima inhibitoria.....	100
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	101
Conclusiones.....	101
Recomendaciones .....	102
REFERENCIAS .....	103

## Contenido de figuras

Figura 1. Candida Albicans.....	13
Figura 2 Candidiasis oral.....	18
Figura 3 Candidiasis cutánea.....	20
Figura 4 Urocultivo con Candida Albicans.....	20
Figura 5. Prueba de sensibilidad a antibióticos .....	27
Figura 6 Equipo de destilación por arrastre de vapor.....	34
Figura 7 Botones florales .....	39
Figura 8 Planta del clavo de olor.....	41
Figura 9 Aceite esencial del clavo de olor .....	43
Figura 10 Molécula del eugenol.....	44
Figura 11 Cocotero.....	46
Figura 12 Palma del coco .....	47
Figura 13, Molécula de ácido láurico.....	51
Figura 14.Espectro visible por el ojo humano.....	54
Figura 15. Balón con 100 gramos de clavo de olor y 20mL de agua destilada.....	60
Figura 16 Equipo de destilación por arrastre de vapor.....	61
Figura 17. Extracción en embudo separador del aceite con Diclorometano .....	62
Figura 18. Secado de la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro.....	62

Figura 19. Evaporación del solvente .....	63
Figura 20. Estructura del eugenol .....	63
Figura 21. Patrones de referencia .....	66
Figura 22. Muestra en ultrasónico .....	66
Figura 23. Destilación Soxhlet .....	68
Figura 24. Ácido carboxílico presente en el ácido láurico .....	69
Figura 25. Patrón de ácido láurico .....	71
Figura 26 Patrones de referencia para la curva de calibración .....	72
Figura 27. Muestras .....	72
Figura 28. Fase oleosa .....	74
Figura 29. Fase acuosa .....	75
Figura 30. Mezcla de fases .....	75
Figura 31. Crema envasada .....	76
Figura 32. Diluciones .....	78
Figura 33. Placas de Agar .....	78
Figura 34. Destilado del clavo de olor .....	79
Figura 35. Separación de fases en embudo separador .....	80
Figura 36. Aceite esencial obtenido .....	80
Figura 37. Prueba de cloruro férrico (III) positiva .....	82
Figura 38. Molécula del eugenol .....	82
Figura 39. Prueba de Baeyer positiva .....	83
Figura 40. Curva de calibración del eugenol .....	84
Figura 41. Espectro infrarrojo del patrón de eugenol .....	86
Figura 42. Espectro infrarrojo del aceite esencial .....	87
Figura 43. Aceite de coco obtenido por extracción Soxhlet .....	88
Figura 44. Reacción de la prueba yoduro-yodato para ácidos carboxílicos .....	89
Figura 45. Prueba de yoduro-yodato positiva .....	90
Figura 46. Curva de calibración del ácido láurico .....	91
Figura 47. Espectro infrarrojo del patrón de ácido láurico .....	92
Figura 48. Espectro infrarrojo del aceite esencial de coco .....	93
Figura 49. Molécula del ácido láurico .....	94
Figura 50. Crema elaborada .....	95

Figura 51.Halos de inhibición de las diluciones ( el 1 corresponde al 0,1%, el 2 al 0,5%, el 3 al 1% y el 4 al 2%) .....	96
Figura 52.Halos de inhibición de la crema y el control positivo.....	97
Figura 53.Comparación antifúngica del aceite de coco y clavo de olor.....	99

## Contenido de tablas

Tabla 1 Taxonomía de Candida Albicans .....	13
Tabla 2 Taxonomía de la planta de clavo de olor.....	40
Tabla 3 Taxonomía de la planta del coco.....	46
Tabla 4. Composición del aceite de coco .....	49
Tabla 5.Componentes de la crema elaborada.....	76
Tabla 6. Características del aceite de clavo de olor obtenido.....	81
Tabla 7.Concentraciones de los patrones de referencia y sus respectivas absorbancias .....	84
Tabla 8. Concentraciones y absorbancias de las muestras .....	85
Tabla 9.Concentraciones de las muestras y sus respectivos g/mL de eugenol.....	85
Tabla 10. Características del aceite de coco obtenido.....	89
Tabla 11. Concentraciones de los patrones de referencia y sus respectivas absorbancias .....	91
Tabla 12.Concentraciones y absorbancias de las muestras .....	91
Tabla 13.Concentraciones de las muestras y sus respectivos g/mL de ácido láurico.....	92
Tabla 14. Medición de los halos de inhibición obtenidos .....	96
Tabla 15. Comparación de la crema realizada con un control positivo.....	98
Tabla 16.Comparación antifúngica del aceite de coco y clavo de olor .....	99

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

### Planteamiento del problema

El uso de las plantas medicinales para el tratamiento de diversas patologías se practica desde el inicio de la historia, en donde los antepasados seleccionaban y recolectaban las plantas a las cuales les atribuían propiedades curativas y ellos mismos las preparaban, es así que con el paso de los años se ha desarrollado el concepto de fitofarmacología la cual se define como: “Rama de la farmacología que se orienta al estudio de los extractos estandarizados de plantas medicinales.”(Pérez y Hernández, 2014, p.15).

Como mencionan los autores anteriores el efecto medicinal que ejerza cada planta va a depender de su estructura y composición química, sin embargo, en la mayoría de ocasiones la población desconoce con exactitud el efecto de las plantas que consumen, es por ese motivo, que en la actualidad, se realizan estudios para determinar las actividades medicinales que puedan ejercer las diferentes plantas y así lograr establecer los posibles usos que se les pueda dar para mejorar la salud de la población.(pp.17-18)

Además, en la actualidad, el interés de la población sobre el uso de plantas medicinales como tratamientos alternativos a sus patologías aumenta. Debido a esto se les debe brindar a las personas en general toda la información relacionada a este tipo de plantas, desde sus efectos beneficiosos, así como sus contraindicaciones, interacciones y efectos adversos que puedan desarrollar. (Rodríguez, Pérez, Iglesias, Gallejo, Veiga y Coteló, 2015, pp. 42-52).

Actualmente, según las estadísticas realizadas se obtiene un número muy significativo de casos de infecciones causadas por *Candida Albicans a nivel mundial*. Castañón (2016) menciona que aproximadamente el 75% de las personas , presenta al menos un episodio de vulvovaginitis debido a este hongo y de ese 75% de los casos un 33% de los casos son reiterados, lo cual preocupa a los expertos ya que gran parte de los casos se reiteran.(párr.. 10).

Si se realizan investigaciones acerca de las propiedades medicinales de las plantas se lograría obtener tratamientos alternativos a los convencionales, tal es el caso de patologías como la candidiasis vaginal, también llamada moniliasis vaginal, la cual es una infección ginecológica causada por el hongo *Candida Albicans*, generalmente, este microorganismo se encuentra formando parte de la microbiota normal de la boca, piel y sistema genital del cuerpo humano, sin embargo desde condiciones especiales puede proliferar su crecimiento y desarrollar de esta manera una candidiasis. Esta infección es una de las más frecuentes y de mayor consulta a nivel ginecológico, tanto en medicina como en farmacias de comunidad, por lo cual es de suma importancia contar con nuevos tratamientos oportunos y eficaces para combatir el hongo.(Pinheiro, 2017, párr. 6).

Según la guía de Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la vaginitis infecciosa de México (2014) las consultas por candidiasis en general en farmacias de comunidad como en áreas de atención de la salud son muy frecuentes, entre ellas encabezando la lista se encuentran las vulvovaginitis en las mujeres.(p.19), incluso en el mismo documento se menciona que al ser un problema tan común y al ir aumentando las estadísticas se debe buscar un tratamiento oportuno. Se menciona, además que solamente con la prevención adecuada, esta enfermedad podría incluso llegar a disminuir los casos.

Para el tratamiento de la candidiasis en general, se debe realizar un abordaje completo del problema, enfocándose principalmente a la prevención, comenzando por una educación higiénica adecuada. En la farmacología actual existe un amplio número de medicamentos antifúngicos que se pueden utilizar, entre ellos el miconazol, fluconazol, itraconazol y nistatina los cuales se pueden emplear de forma tópica y oral, sin embargo, el tratamiento con este tipo de medicamentos tiene poca adherencia por diversos motivos, entre ellos: costo, problemas de acceso a las áreas de salud, reacciones adversas, hepatotoxicidad. Es debido a las razones anteriormente mencionadas que se da una falta de adherencia al tratamiento y por lo cual las infecciones no se erradican del todo y vuelven a aparecer incluso generando mayores complicaciones.(Pinheiro,2017, párr.22).

Por las razones anteriores es que las personas tienden a recurrir al uso de extractos naturales, ya que en múltiples ocasiones tienen mayor facilidad para acceder a este tipo de sustancias. Por este motivo, es que se desea realizar una forma farmacéutica a base

de principios activos presentes en la naturaleza como lo son el clavo de olor y el coco, ya que el clavo de olor, según Moura *et al*(2012) citado por López y Aguilar (2013) cuenta con propiedades antisépticas, analgésicas, antibacterianas, anestésicas y antifúngicas, siendo esta última mencionada la más relevante para esta investigación, ya que como señalan López y Aguilar(2013) el clavo de olor tiene su principal efecto antifúngico en la especie *Candida Albicans*.(pp. 36-39).

Existen estudios *in vitro* que han logrado evidenciar el papel antifúngico del clavo de olor, entre ellos uno realizado en ratas, en donde se realizó la comparación de la efectividad del aceite versus la nistatina la cual se encuentra comercializada para este fin. En dicho estudio, se observó que el eugenol redujo considerablemente las unidades presentes de *Candida Albicans* en la cavidad oral de las ratas tratadas, además a la hora de realizar la comparación del efecto inhibitorio del eugenol con la nistatina se obtuvieron resultados positivos para el eugenol, ya que la inhibición del hongo en los animales tratados con esta sustancia fue similar a la de la nistatina, concluyendo que verdaderamente el eugenol es efectivo en la eliminación de la *Candida*.(Chammil, et.al, 2004)

Con respecto del aceite esencial de coco, éste se utiliza, principalmente, en la gastronomía y cosmetología, sin embargo en los últimos años se ha utilizado en la medicina moderna ya que con el paso de los años se le han atribuido propiedades diuréticas, y antihelmínticas. En estudios recientes se ha logrado evidenciar que gracias a su composición y a su forma estructural basada en ácidos grasos de cadena corta se le puede atribuir la propiedad antifúngica frente a diversos microorganismos, entre ellos la *Candida Albicans*. (Kearney, Tornberg-Belanger, Nirupa, Lichtenstein, Kumamoto, 2015, p.2).

Recientemente, se continúa estudiando el efecto antimicrobiano y antifúngico de coco, se han realizado estudios *in vitro* en animales en donde incluso se compara el efecto del aceite del coco con el fluconazol, uno de los fármacos más potentes utilizados en candidiasis, resultando que el aceite incluso es efectivo en cepas que presentan o que han desarrollado resistencia al mismo fluconazol, en donde se evidencia la importancia de contar con nuevas alternativas naturales que sean igual de eficaces que los medicamentos obtenidos de manera sintética.( Ogbolu, et.al,2009)

Es por ello que surge la necesidad de investigar sobre una alternativa farmacéutica a base de plantas medicinales en relación con la siguiente interrogante:

¿Cuál es la eficacia antifúngica que poseen los aceites esenciales de clavo de olor y coco frente al hongo *Candida Albicans*?

### **Hipótesis**

La forma farmacéutica a base de aceite esencial de clavo de olor y coco tiene potencial efecto antifúngico ante el hongo *Candida Albicans*.

### **Objetivo general**

Evaluar de manera in-vitro el efecto antifúngico de los aceites esenciales de clavo de olor, el eugenol y coco, el ácido láurico frente al hongo *Candida Albicans*.

### **Objetivos específicos**

Extraer de cada aceite esencial los principios activos de cada planta responsables de ejercer el efecto antifúngico, en el caso del aceite de clavo de olor el eugenol, y en el del coco el ácido láurico.

Comparar de manera in-vitro ambos aceites para determinar cuál aporta mayor efecto antifúngico contra *Candida Albicans*.

Determinar la eficacia de la forma farmacéutica elaborada por medio de una comparación in vitro con clotrimazol encontrado en el mercado

Establecer la concentración mínima efectiva de crema que ejerce efecto antifúngico frente a *Candida Albicans*.

## Justificación

En la actualidad, la industria farmacéutica se ha enfocado un poco más en la elaboración de productos a base de plantas medicinales, promoviendo el uso de fitofármacos. Un fitofármaco se puede definir como: “Medicamentos cuya sustancia activa tiene el extracto de una determinada planta, a diferencia de un fármaco químico que proviene de una molécula química sintetizada.” (Hernández, 2014, p.17)

Precisamente, es por ello que se observa conveniente esta investigación, ya que si se realiza un fitofármaco con efectos antifúngicos frente al hongo *Candida Albicans* se lograría obtener una alternativa farmacéutica a los tratamientos que, actualmente, se utilizan para patologías causadas por este hongo. Además, probablemente al informarle a la población que es a base de extractos vegetales les despierte mayor interés y le brinde mayor confianza a la hora de elegir entre otros tratamientos ya existentes que se cuentan en el mercado.

Se ha logrado observar la gran aceptación que presentan los pacientes ante los fitofármacos, ya que, según el Centro Interdisciplinario de Investigación y Evaluación de la Salud (CIHRE) de la Universidad de Texas en un estudio realizado un gran número de pacientes prefieren recibir tratamiento con este tipo de productos. Las razones se basan principalmente en sus creencias, ya que en muchas ocasiones consideran que todo producto que proviene de las plantas es beneficioso, incluso estiman que tienen menos efectos secundarios,

A pesar de que se cuenta con diversos fármacos para el tratamiento de las candidiasis, entre ellos el fluconazol, itraconazol, nistatina y miconazol, el porcentaje de candidiasis recurrente es muy alto, ya que incluso algunas personas presentan más de cuatro eventos de candidiasis en menos de un año. Las estadísticas preocupan a los profesionales en salud, debido a que este hongo puede crear resistencia a los fármacos ya existentes, motivos por los cuales se pretende educar a la población acerca de la importancia de finalizar el tratamiento completo. (Cararach, et.al ,2013, p.109).

La importancia de contar con alternativas farmacéuticas para la sociedad radica, principalmente, en el acceso que pueda tener la población a estas, por lo que se busca que este tipo de productos logren estar al alcance de toda la población que lo requiera. En este caso se buscará el beneficio de todas las personas que experimenten a lo largo de su vida uno o más episodios de candidiasis, mediante la elaboración de una crema con la propiedad de erradicar el hongo, contribuyendo de esta manera a mejorar la salud y la calidad de vida de las personas.

Por medio de esta investigación se pretende brindar ayuda a la sociedad, ya que si se logra evidenciar que del aceite de coco y de clavo de olor pueden surgir nuevos fármacos antifúngicos se lograría obtener una disminución de las estadísticas de los casos de candidiasis, ya que son cifras muy elevadas. Aproximadamente, el 25% de las enfermedades ginecológicas son las vulvovaginitis, en donde se evidencia por medio de estudios que la mayoría son causadas por la especie *Candida Albicans*, siendo esta una de las principales enfermedades causadas por dicho hongo.(Bautista y Ruiz, 2011, pp.139-140)

Para problemas ginecológicos de este tipo, existen escasos o nulos tratamientos que correspondan a fitofármacos, razón por la cual las mujeres con candidiasis vaginal se tratan farmacológicamente con los azoles como primera opción los cuales son fármacos que tienen un elevado costo, un intervalo de dosificación que puede conllevar olvidos de dosis y en ocasiones producen efectos adversos significativos como hepatotoxicidad y toxicidad renal. En múltiples ocasiones debido a los efectos adversos y al costo las mujeres deciden suspender el tratamiento, provocando una falta de adherencia así como reincidencia de la infección, sin tomar en cuenta la resistencia que puede crear el microorganismo hacia los fármacos.

Es por ello que se desea resolver este problema mediante la elaboración de un fitofármaco por medio del cual se podría eliminar la falta de adherencia al tratamiento al disminuir los efectos adversos y el costo, logrando así que las personas que estén cursando por un episodio nuevo o repetitivo de candidiasis obtengan beneficios y erradiquen por completo la enfermedad. Si se determina la efectividad antifúngica del presente fitofármaco se podría comprobar que dándole un uso adecuado y racional a los extractos vegetales, estos podrían brindar grandes beneficios a la salud de la población, ya que se le daría un

interés extra a la investigación en esta rama de la farmacia y con esto se podrían elaborar más fitofármacos que ayuden a resolver más problemas de salud de la población.

Además, de resultar exitosa la investigación se lograría comprobar la información que se obtiene de la literatura. Se menciona que el clavo de olor al contener en mayor proporción en su estructura el eugenol posee propiedades bactericidas, fungicidas, antisépticas y antiparasitarias, debido a que se ha evidenciado que el eugenol inhibe la producción enzimática intracelular de amilasas y proteasas presentes en el hongo por lo cual destruyen la pared celular del mismo (Veloz, 2011, pp. 40-48),

Por otra parte con respecto del aceite de coco apenas se está comenzando a investigar acerca de su uso como antifúngico, sin embargo, según Kearney et al, 2015 en un estudio realizado se logró observar que el aceite de coco contiene dentro de sus principales componentes al ácido láurico en su estructura. Además del ácido mencionado, la estructura se encuentra compuesta por diversos ácidos grasos de cadena corta, por lo cual se plantea que esta composición es lo que hace que se le atribuya el efecto fungicida al aceite esencial del coco. (p.2)

Es por esto que con esta investigación se busca comprobar los fundamentos teóricos con los que se cuentan en la literatura, mediante la extracción de los principios activos (eugenol y ácido láurico) de las sustancias por utilizar, ya que múltiples autores evidencian que tienen un alto potencial antifúngico en cepas de *Candida Albicans* por lo cual funcionaría con éxito frente a un candidiasis. De igual manera con este trabajo se contribuye como fuente de información o evidencia en el caso de una futura investigación, con el fin de ayudar como referencia y de esta manera mejorar la forma de experimentar para la elaboración de nuevos fitofármacos que logren ayudar a mejorar la calidad de vida de la población.

### **Antecedentes**

Se realizó la búsqueda de antecedentes relacionados con el tema de investigación a nivel nacional en la Universidad Latina, Universidad Iberoamericana, Universidad de Costa Rica, Universidad de Ciencias Médicas y la Universidad Internacional de las Américas, encontrando tres antecedentes solamente, además a nivel internacional se buscaron antecedentes en bases de datos como Scielo, Elsevier, Dialnet, tesis internacionales, artículos científicos y estudios clínicos, encontrando un total de 8 antecedentes internacionales.

### **Internacionales**

En un artículo realizado en un laboratorio clínico en Valencia, España en el año 2000 por Pitarch llamado “Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales” se compara la actividad antimicrobiana de diversos aceites esenciales entre ellos se nombra el eugenol, en donde se evidencia que presenta una actividad marcada contra la *Candida Albicans*. Los objetivos de dicho artículo expresaban la importancia de explorar las propiedades antimicrobianas de diversos aceites esenciales utilizando metodologías microbiológicas obteniendo resultados favorables para el eugenol y concluyendo que tiene eficacia frente a *Candida Albicans*.

En el estudio científico “Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats”( Tratamiento antifúngico con carvacrol y eugenol en candidiasis oral en ratas inmunodeprimidas) realizado por ChamiI,N,ChamiI,F,Bennis,Trouillas, y Remmal en el departamento de Biotecnología en Francia en el 2004, se realizó un estudio con ratas, en donde se administró eugenol para la eliminación de la candidiasis, como resultados se menciona que el eugenol redujo considerablemente las unidades formadoras de colonias de *Candida Albicans* en la cavidad oral de las ratas tratadas, además se realizó la comparación del efecto inhibitorio del eugenol con la nistatina obteniendo resultados similares comprobando el efecto del

eugenol, concluyendo que verdaderamente el eugenol es efectivo en la eliminación de la *Candida*.

También, se realizó un estudio llamado "In Vitro Antimicrobial Properties of Coconut Oil on Candida Species in Ibadan, Nigeria" (Propiedades antimicrobianas in vitro del aceite de coco en la especie *Candida* en Ibadan, Nigeria) publicado en *Journal of Medicinal Food* en el 2009 realizado en Nigeria por Ogbolu, Oni, Daini y Oloko, se explica que como objetivos se desea determinar la efectividad del coco en cepas de *Candida Albicans*, se comparó la efectividad del coco con el fluconazol, confirmándose la actividad antifúngica del aceite virgen de coco frente a *Candida Albicans*, en donde se logró observar que incluso cepas resistentes al fluconazol se vieron afectadas por la acción del aceite esencial de coco, concluyendo que este aceite se podría explotar de tal manera que se lograrían crear medicamentos para microorganismos que ya sean resistentes a ciertas moléculas antifúngicas ya comercializadas.

En la Universidad Politécnica salesiana sede Quito, Ecuador, se desarrolló un proyecto de graduación por la autora Veloz en el año 2011 con el tema "Eficacia in-vitro de un colutorio elaborado con aceite esencial de ishpingo y clavo de olor" en donde los objetivos consistieron en determinar la eficacia antimicrobiana de un colutorio, así como la comparación de la eficacia del mismo con otros colutorios ya comercializados en ese país, concluyendo que el colutorio realizado contaba con potencial antimicrobiano, y fungicida frente a cepas que se encuentran presentes a nivel bucal, entre ellas la *Candida Albicans*.

Además, se encontró un artículo llamado: "Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle" (Los terpenoides inhiben el crecimiento de *Candida Albicans* afectando la integridad de la membrana celular) realizado en el 2011 en la India en la Universidad SRTM por Gajanan, Archana, Sitaram y Karuppayil en donde los principales objetivos fueron determinar la efectividad de los terpenoides en *Candida* en donde se determinó que los terpenoides inhiben el crecimiento de *Candida Albicans* al afectar la integridad de membrana y la detención de ciclo celular, siendo uno de los más tóxicos para la *Candida Albicans* el eugenol, en donde éste inhibe el 99,9% del inóculo dentro de los primeros siete minutos de exposición..

Por otra parte en el 2013, Aguilar y López elaboran el artículo “Extractos y aceite esencial del clavo de olor y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos” en la Universidad de las Américas Puebla, México, donde los objetivos describen principalmente conocer mediante una metodología de revisión bibliográfica, la efectividad del aceite esencial de clavo de olor para poderlo utilizar como conservante antimicrobiano en alimentos, mencionan al eugenol como principal responsable del efecto antifúngico contra diversas especies de hongos y levaduras, entre ellas señalando la *Candida Albicans* dentro de los principales, además realizan una descripción de los principales métodos por los cuales se puede extraer el aceite esencial del clavo de olor., obteniendo así una relación con el presente trabajo ya que los métodos mencionados son de utilidad para la extracción.

Por otra parte, con respecto del aceite esencial de coco se encontró un artículo realizado por Kearney, Tornberg-Belanger, Nirupa, Lichtenstein, Kumamoto, en la Universidad Carnegie Mellon publicado en el 2015 llamado “Manipulation of Host Diet To Reduce Gastrointestinal Colonization by the Opportunistic Pathogen *Candida albicans*”. (Manipulación de la dieta de animales para reducir la colonización gastrointestinal del patógeno oportunista *Candida Albicans*) En donde se realizaron investigaciones con ratas con los objetivos de evidenciar la efectividad del coco frente a la colonización del hongo *Candida Albicans* en el intestino de estas, se encontró que los ratones alimentados con aceite de coco tuvieron 10 veces menos colonización de *C. Albicans* en el intestino confirmando la actividad antimicótica del aceite de coco frente a esta cepa.

### **Nacionales**

En la Universidad Iberoamericana se encuentra otra tesis titulada “Evaluación del clavo de olor como agente antibacteriano para formular un enjuague bucal” realizada por Jenkins y Vindas en el 2010, en donde se expone que el objetivo principal fue determinar la capacidad del eugenol para controlar el crecimiento de diversos microorganismos, se logró comprobar que el aceite esencial del clavo de olor al contener eugenol dentro de su composición, tiene potencial bacteriostático suficiente para controlar comunes infecciones bucales entre ellas una de mayor frecuencia la infección causada por

la *Candida Albicans*, por lo cual se concluye que sería útil su utilización en infecciones causadas por este hongo.

En el 2013, en la misma universidad anterior se realizó un proyecto de graduación titulado “Formulación de un enjuague bucal a base de aceites esenciales de tomillo y clavo de olor con propiedades antimicrobianas” realizado por León y Ulate en donde los objetivos consistieron en elaborar el enjuague y determinar su posible acción antibacteriana, utilizando una metodología cuantitativa se expone que el eugenol tiene una marcada actividad bactericida y bacteriostática ante patógenos, entre ellos: *Bacillus Cerus*, *Escherichia Coli* y *Candida Albicans*.

En la Universidad Internacional de las Américas, Morales realizó una tesis en el 2012 titulada “Análisis in vitro del efecto antibacteriano del aceite esencial del clavo de olor (*syzygium aromaticum*) sobre una de las principales cepas bacterianas causales de faringoamigdalitis (*streptococcus pyogenes*) realizado durante los meses de mayo y agosto del 2012.” en donde se analiza de forma in-vitro la actividad antibacteriana del aceite esencial del clavo de olor sobre una de las principales cepas bacterianas causales de faringoamigdalitis, en donde el objetivo general y los específicos se relacionan al buscar la efectividad antimicrobiana del clavo de olor sobre el *Streptococcus pyogenes* comprobando la actividad antibacteriana.

Se realizaron visitas a la Universidad Latina, a la Universidad de Costa Rica(UCR) y a la Universidad de Ciencias Médicas(UCIMED), se consultaron sus respectivas bases de datos, sin embargo, no se encontraron resultados relacionados con el tema de esta investigación.

### **Proyecciones**

Con los resultados de esta investigación, se pretende crear una forma farmacéutica con los aceites esenciales de clavo de olor y coco que sea de fácil uso, de bajo costo y de fácil acceso, para que de esta manera se encuentre disponible para la población una vez que se le realicen las pruebas de calidad necesarias en el laboratorio Microlabs para lanzar

el producto al mercado y de esta forma se logre erradicar las enfermedades provocadas por el hongo *Candida Albicans*, y así disminuir las estadísticas que se obtienen a nivel mundial.

## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

En este capítulo. Se mencionará acerca de las principales infecciones producidas por el hongo *Candida Albicans*. Se explicarán ampliamente sus causas, sus factores de riesgo, sus consecuencias, diagnóstico y tratamientos farmacológicos. Se incluye información acerca de los usos de plantas medicinales en el mundo conforme el paso de los años y del uso de fitofármacos en la actualidad, se realizará además, una amplia investigación sobre las dos plantas que se van a utilizar para realizar la forma farmacéutica, se hablará acerca de sus orígenes, sus hábitats, sus clasificaciones taxonómicas, así como de sus respectivos aceites esenciales y sus componentes principales, sus efectos farmacológicos en general y más ampliamente de sus efectos antimicóticos.

### **Candida Albicans**

Es un hongo dimórfico, es decir, que se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento, como levadura, normalmente a 37°C en el huésped, y como hongo de aspecto filamentoso, a 25°C en la naturaleza, pertenece al filo Ascomycota y se reproduce de forma asexual por gemación, es considerada un hongo patógeno oportunista en mamíferos, entre ellos el hombre, que puede causar varias formas de candidiasis.(Laforet,2010, p. 1)



El dimorfismo que presenta este hongo, según el mismo autor le permite evadir mecanismos de defensa relacionados con la inmunidad celular del huésped, en forma de levadura suele comportarse como saprofito conviviendo en simbiosis con el huésped, pero en su forma de hongo filamentoso se comporta

como un parásito patógeno llegando a producir los signos y síntomas en el huésped. (p. 2)

Figura 1. *Candida Albicans*

Fuente: Vilugron (2012)

### Clasificación taxonómica

Tabla 1 Taxonomía de *Candida Albicans*

<b>Reino</b>	<b>Fungi</b>
<b>Phylum</b>	Ascomycota
<b>Subphylum</b>	Ascomycotina

<b>Clase</b>	Ascomycetes
<b>Orden</b>	Saccharomycetales
<b>Familia</b>	Saccharomycetaceae
<b>Género</b>	Candida

Fuente: elaboración propia(2017)

### **Patogenicidad de Candida Albicans**

Es una levadura comensal, presente en las mucosas de los seres humanos y los animales de sangre caliente, se ha identificado principalmente en la cavidad oral, el tracto gastrointestinal y urogenital, y su conversión en agente patógeno depende principalmente de la alteración del equilibrio entre la microbiota y el sistema inmunitario del huésped en donde es considerada por ello un patógeno oportunista. El estado fisiológico del huésped es el primer factor que influye en la etiología de las candidiasis, ya que alteraciones de este estado pueden desencadenar que las levaduras comensales se conviertan en patógenas, causando infecciones (Laforet, 2010, p.2)

### **Propagación y transmisión**

El reservorio principal es el ser humano, ubicándose principalmente en la microflora de la piel, la cavidad oral, el tracto gastrointestinal, el sistema genitourinario, heces y semen y se transmite por medio de contacto de la piel o mucosas.(Laforet,2010, p.3-4)

### **Tipos de infecciones causadas por *Candida Albicans***

#### **Vulvovaginitis candidiásica**

Llamada también candidiasis, es una micosis causada por diversas especies de levaduras del género *Candida* en donde cualquier tejido puede ser afectado por lo que se presentan diversos cuadros clínicos, cada uno de ellos asociado directamente al estado inmunológico del paciente. A nivel vaginal es una enfermedad inflamatoria de la vagina, que se produce por hongos, principalmente por *Candida Albicans* la cual produce aproximadamente el 90% de los casos de candidiasis, es un proceso muy común en las mujeres adultas.Según la Guía de Asistencia Práctica(2016) se presenta un pico de incidencia en las mujeres entre los 20 y 40 años y además, se estima que a los 25 años, el 50% de las mujeres habrá tenido al menos un episodio de candidiasis y que entre las mujeres pre menopáusicas, el 75% ha sufrido al menos un episodio.(p.352)

## **Fisiopatología de las infecciones vaginales**

Las infecciones vaginales se consideran como una variante de la microbiota vaginal. En el ecosistema vaginal, desde diversas condiciones se da un incremento en la producción de glucosa por el epitelio, lo que establece el sustrato para que los lactobacilos generen ácido láctico y de esta manera reduce los valores de pH favoreciendo la llegada de especies de lactobacilos, sin embargo, no se sabe con exactitud la razón por la cual se desarrolla el desequilibrio normal de la microbiota, se cuentan con hipótesis, la más reciente es que se desarrolla una forma natural de respuesta a la relación sexual, donde la mezcla del eyaculado y el trasudado vaginal generado en el coito quienes elevan el pH en un intento de protección a los espermatozoides de los efectos del ácido láctico en donde este nuevo microambiente favorece la proliferación de microorganismos.(Cancelo, 2013, p.280), dentro de los tipos de infecciones en el sistema genital femenino se encuentran las siguientes:

### **Síntomas de vulvovaginitis candidiásica**

Cuando se produce algún cambio en la microbiota vaginal se favorece la proliferación de *Candida Albicans* lo que da lugar a los síntomas característicos de una candidiasis los cuales, según la Guía de Asistencia Práctica(2016) se encuentran:

- Secreción vaginal característica, la cual es blanquecina con grumos.
- Prurito.
- Disuria.
- Dispareunia.
- Sensación de escozor o irritación en los genitales externos.
- Mucosa vaginal eritematosa con leucorrea blanca fácil de desprender.
- Lesiones cutáneas en vulva y periné.

### **Factores de riesgo de vulvovaginitis Candidiásica**

Existen factores desencadenantes de la infección candidiásica bien definidos como:

- Factores hormonales, en donde niveles muy altos o muy bajos de estrógenos interfieren en el medio ambiente vaginal y aumentan el riesgo de candidiasis, esto explica por qué situaciones como embarazo, reposición hormonal, menopausia, uso

de anticonceptivos hormonales e inclusive el periodo ovulatorio pueden facilitar la aparición de vulvovaginitis por *Candida*.

- Problemas de inmunosupresión ya sea por el uso de fármacos o por enfermedades como cáncer y VIH.
- Uso de antibacterianos, siendo esta causa una de las más comunes, ya que aproximadamente el 25-30% de las mujeres sometidas a tratamiento con antibióticos de amplio espectro desarrollan episodios de candidiasis vaginal.
- Uso de esteroides principalmente a nivel oral por lo cual se recomienda siempre enjuagar la cavidad oral luego de utilizar algún corticoesteroide a este nivel.
- Diabetes mellitus mal controlada ya que el flujo vaginal en estas mujeres contiene más azúcar debido al exceso de azúcar en la sangre y esto proporciona el entorno ideal para que el hongo prolifere.(p.353)

La candidiasis vaginal se puede clasificar en candidiasis complicada y no complicada, la no complicada se caracteriza por episodios esporádicos o poco frecuentes, además de síntomas leves o moderados, mientras que en la complicada los episodios son recurrentes de tres a cuatro por año, y síntomas más graves, la candidiasis se considera complicada cuando existe alguna condición especial como diabetes, enfermedad médica grave, inmunosupresión o embarazo. (Vega, 2015,p. 3)

### **Diagnóstico y diagnóstico diferencial**

La anamnesis tiene un papel fundamental en el diagnóstico ya que es importante detectar la presencia de cualquier factor desencadenante del posible cambio de la microbiota que favorezca el crecimiento de *cándida*, o la presencia de factores personales como antecedentes de diabetes o embarazo, así como la existencia de episodios previos de candidiasis puede orientar al médico. El diagnóstico no debe basarse solamente en los síntomas, debe realizarse una exploración junto con pruebas complementarias como determinación del pH, ya que una de las causas más frecuentes del fallo terapéutico es un diagnóstico erróneo. (Vega, 2015, p.4)

Es importante, además tener claro cuál es el diagnóstico diferencial de la candidiasis vaginal, dentro de los cuales, según el autor anterior se pueden encontrar: Reacciones de

hipersensibilidad, reacciones alérgicas o a químicos, dermatitis de contacto, irritación mecánica por falta de lubricación durante el coito o infecciones mixtas.(p.4)

### **Candidiasis vulvovaginal recurrente**

La candidiasis vulvovaginal recurrente se define como 4 o más ataques de infección sintomática de vaginitis por *Candida* en menos de 12 meses, generalmente se produce debido a los diversos factores de riesgo ya mencionados, o incluso se debe a la falta de adherencia al tratamiento indicado en cada caso, también a una terapia farmacológica inadecuada o ineficiente, o incluso una candidiasis recurrente se puede presentar por una predisposición genética, en el caso de candidiasis vulvovaginal recurrente se deben tomar medidas especiales, entre ellas se debe duplicar la dosis de tratamiento farmacológico cuando es vía oral o ampliar su tiempo de aplicación en caso de ser tópico.(Reynaud, 2007, p.162.)

### **Candidiasis vaginal en el embarazo**

En el curso de un embarazo normal, la flora microbiana vaginal tiene la función principal de dar protección contra infecciones por una serie de mecanismos, durante el embarazo, las infecciones genitales aumentan el riesgo de sepsis postaborto, aborto temprano, aborto recurrente, aborto tardío, rotura prematura de membranas y parto pretérmino espontáneo.(Pradenas,2014,p.1)

Según el autor anterior durante el embarazo los cambios hormonales son muy comunes, se caracterizan por un aumento de la producción de estrógenos que producen a su vez mayor concentración de glucógeno vaginal, junto con la supresión de la inmunidad celular, se asocia no solamente con altos índices de colonización, sino que también con altos índices de infección y recurrencias.

Las manifestaciones clínicas como menciona Vega(2015) de infección en el recién nacido van desde pequeñas infecciones locales de piel o mucosas, infecciones orofaríngeas, hasta cuadros severos como hemorragias o infección sistémica con necrosis de cerebro, corazón, pulmones, riñones y otros órganos nobles, donde el cuadro de candidiasis congénita se manifiesta dentro de las primeras 24 horas de vida del niño y es producto de una infección intrauterina o de una colonización vaginal severa en el momento del parto.

En este caso, el tratamiento está destinado al alivio de los síntomas, además el tratamiento de elección en mujeres embarazadas con infección candidiásica es el tópico, ya que es más seguro para el feto, se recomienda utilizar clotrimazol o miconazol por un periodo no mayor a 7 días,(Vega,2015, p.5)

### **Candidiasis oral**

La candidiasis oral es una infección bucal producida principalmente por la *Candida Albicans*, es una infección muy común que se conoce a menudo como aftas, por lo general este hongo se encuentra en condiciones normales en la zona oral sin causar ningún tipo de molestia, ya que se encuentra formando parte de la microbiota normal, pero cuando las condiciones en la boca permiten el crecimiento excesivo de la candida, se puede desarrollar candidiasis oral. Los pacientes, generalmente, manifiestan una sensación de ardor o sensibilidad en la boca y con frecuencia desarrollan parches de color blanco y amarillo en la zona, principalmente en la lengua, además la candidiasis oral también puede causar dolor de garganta.(Brigham and women´s hospital,2016, pp. 1-2)

Existen diversas causas para desarrollar una candidiasis oral, según la asociación anterior entre ellos el uso de medicamentos esteroides tópicos como inhaladores para el asma, geles y enjuagues para la enfermedad oral infamatoria, puede predisponer a la persona a desarrollar una candidiasis oral, además el tener una boca seca crónica es un factor de riesgo importante ya que la saliva tiene propiedades antifúngicas y los pacientes que sufren de sequedad en la boca tienen mayor riesgo de desarrollar candidiasis oral, y por último, una mala higiene dental, dentro de su tratamiento se recomienda utilizar el tópico con sustancias como nistatina y clotrimazol y si se requiere un tratamiento oral se emplea fluconazol.(pp. 1-2)

Figura 2 Candidiasis oral

Fuente: DentiSalud (2016)

### **Candidiasis cutánea**

Son infecciones producidas por levaduras del género *Candida*, que se desarrollan en la piel, uñas y membranas mucosas, sin embargo, no afectan al pelo. A pesar de que *Candida albicans* se encuentra en la microflora oral, gastrointestinal o genital no se



encuentra en la microbiota normal de la piel por lo que prolifera en ésta bajo condiciones especiales.(Martínez, s.f, p. 43)

La candidiasis cutánea, según ese mismo autor se puede manifestar de diversas maneras, entre ellas la más común es el intertrigo candidiásico con diversas localizaciones como la zona axilar, inguinal, interglúteo y submamario, se considera que la falta de ventilación, la humedad y la poca higiene son elementos que favorecen su aparición. La lesión inicial es una vesícula-pústula, que se rompe y se une a otras para formar una placa eritematosa, En el caso del eritema del pañal hay que pensar en la posibilidad de candidiasis cuando se prolonga más allá de las 36-48 horas. (pp. 43)

El tratamiento se prefiere tópico, se pueden utilizar fármacos como nistatina, imidazoles, o terbinafina durante 5-7 días. En el intertrigo son útiles los productos inespecíficos como astringentes, antisépticos y secantes, además como parte del tratamiento hay que evitar la humedad, además de mejorar la higiene y utilizar ropa con ventilación adecuada.(Martínez, s.f, pp. 44-45)

Figura 3 Candidiasis cutánea

Fuente: EcuRed (2017)

### **Candiduria e infección urinaria**



La candiduria aparece en un 5% de los cultivos de orina y un 25% de los pacientes hospitalizados portadores de sonda vesical, existen diversos factores predisponentes para la colonización e infección urinaria por *Candida* dentro de los cuales se encuentran la presencia de alteraciones estructurales de la vía urinaria, la presencia de sonda vesical, la cual se considera la primera causa a nivel hospitalario, diabetes mellitus y tratamiento con antibióticos de amplio espectro. (Magariños y Rodríguez, s.f, pp. 443-444)

Según los mismos autores la detección de candiduria es frecuente en pacientes de edad avanzada, especialmente en los ancianos hospitalizados, la mayoría de pacientes con candiduria se encuentran asintomáticos, es importante realizar cultivos para determinar el microorganismo y así poder brindar un tratamiento racional y adecuado. Generalmente, en pacientes hospitalizados el cambio de la sonda vesical hace desaparecer la candiduria en el 20% de los casos y su retirada en el 40% su tratamiento generalmente se basa en fluconazol vía oral. (pp. 444-445)

Figura 4 Urocultivo con *Candida Albicans*



Fuente: Solórzano (2012)

### **Candidemia**

El término candidemia corresponde a la infección causada por el hongo *Candida Albicans* que pasa al torrente sanguíneo, esta infección generalmente ocurre solamente en pacientes que se encuentren hospitalizados, pero cuenta con diversos factores de riesgo que pueden predisponer a cualquier persona, tales como la pérdida de los mecanismos de defensa del hospedero, ya sea inmunosupresión o pérdida de las barreras cutáneas y mucosas debido a intervenciones quirúrgicas, heridas, quimioterapia o catéteres vasculares, otros factores de riesgo son enfermedad grave subyacente, nutrición parenteral total, tratamiento con esteroides y ventilación mecánica. (De la Torre, Martínez y Reséndiz, 2014, pp.122-123)

### **Tratamiento farmacológico de vulvovaginitis candidiásica y otros tipos de candidiasis**

La vulvovaginitis causada por *Candida Albicans* se divide en complicada y no complicada, según sea el caso así va a ser su tratamiento, en el caso de la no complicada se utilizan fármacos como clotrimazol y miconazol, tanto por vía oral como tópica, además se emplea también la nistatina en vía tópica y el fluconazol una dosis única vía oral, para la candidiasis complicada el régimen terapéutico es diferente, ya que su intervalo de dosificación es mayor, se usa fluconazol por tres días alternos o tratamiento tópico por 7 a 14 días. Se recomienda posteriormente un esquema de mantenimiento que consiste en la

administración de fluconazol una vez por semana por 6 meses, también se puede utilizar Clotrimazol una vez por semana por 6 meses. (Cannoni y Bórquez, 2011, p. 52)

### **Clotrimazol**

El clotrimazol es un fármaco que pertenece a la familia de antifúngicos azólicos, según Lorenzo(2008) el clotrimazol posee el siguiente mecanismo de acción: “Altera la membrana de los hongos sensibles inhibiendo la síntesis del ergosterol al interactuar con la 14-alfa-metilasa, una enzima del citocromo P450 necesaria para transformar el lanosterol a ergosterol, un componente esencial de la membrana.” Es por ello que la ausencia del lanosterol en la membrana aumenta la permeabilidad de la célula causando la pérdida de componentes esenciales de la misma, como el potasio y fosfatos que se escapan a través de las fisuras de la membrana. Este medicamento no se administra por vía sistémica, solo por vía tópica, se habla que por vía vaginal, se absorbe entre el 5 y 10% de la dosis, pero las concentraciones plasmáticas llegan a ser muy pequeñas, aun así las pequeñas cantidades que se absorben se excretan por bilis y son metabolizadas en el hígado, este fármaco se fija a las mucosas oral y vaginal por lo que hasta 3 días después de su aplicación. Se pueden detectar concentraciones significativas del fármaco en la zona.(pp.968-969)

Se encuentra indicado en el tratamiento de las infecciones superficiales de la piel, tales como: tiña del pie, tiña de las manos, tiña del cuerpo, tiña inguinal, pitiriasis versicolor, balanitis candidiásica y candidiasis vulvovaginal. La dosis de clotrimazol que se recomienda, según el autor anterior para vulvovaginitis candidiásica depende de la forma farmacéutica que se utilice, si se emplea crema se recomienda aplicar una dosis de aproximadamente 50 mg intravaginalmente con un aplicador una vez al día, a la hora de acostarse durante 7 a 14 días consecutivos, si el tratamiento es con óvulos vaginales se recomienda aplicarse un óvulo de 100mg al acostarse durante 7-14 días (pp. 969).

El medicamento de elección en embarazo es el clotrimazol tópico durante los primeros dos trimestres, siempre y cuando se consulte al médico o farmacéutico, con respecto de sus contraindicaciones personas con hipersensibilidad no deben de utilizar este fármaco. Algunas interacciones que podría presentar este fármaco serían principalmente si se administra en conjunto con otros antifúngicos ya que podrían disminuir el efecto de ambos, además no se recomienda utilizar espermicidas o condones de látex mientras se

coloque la crema en la zona debido a que pueden anular el efecto anticonceptivo, así mismo como pueden disminuir el efecto en las pastillas anticonceptivas por lo cual se recomienda no tener relaciones sexuales mientras se aplique el tratamiento. Dentro de sus efectos adversos más significativos se encuentran el prurito, la sensación de quemazón, inflamación, enrojecimiento, ampollas en el área e irritación.(pp. 969)

Marcas comerciales encontradas en Costa Rica: Candistat®, Canesten®, Clotrivag®, Saniderm® y Vagil-C®

### **Miconazol**

Al igual que el clotrimazol, este fármaco pertenece al grupo de los antifúngicos azólicos, por lo cual el miconazol ejerce su efecto mediante la alteración de la membrana celular del hongo mediante el mismo mecanismo de acción del clotrimazol. En su farmacocinética tópica sólo pequeñas cantidades de miconazol intravaginal se absorben sistémicamente, se han detectado concentraciones séricas muy pequeñas incluso después de 14 días de administración en un tratamiento completo y su metabolización ocurre en mayor cantidad en el hígado.

Este medicamento se indica principalmente en el tratamiento de infecciones de la piel como pie de atleta, sarna y principalmente las infecciones vaginales. La dosis que se recomienda es aplicar un óvulo de 200 mg una vez al día al acostarse durante 7 días o aplicar crema una vez al día a la hora de acostarse durante 3 días.

Con respecto de sus contraindicaciones, no se recomienda utilizar en personas que presenten hipersensibilidad a los azoles, además se debe emplear por menos de siete días y no se recomienda su uso durante el embarazo a menos que el médico lo considere necesario, ya que este medicamento es categoría C en este estado, sin embargo, el uso tópico no ha demostrado daño durante esta etapa, y al igual que el clotrimazol, este medicamento puede producir reacciones adversas a nivel tópico como prurito, irritación, ampollar en la zona o sensación de quemazón. No se recomienda utilizar dispositivos anticonceptivos, incluidos los condones, diafragmas y espermicidas ya que se pueden dañar durante el uso de estos productos, y pueden conducir a fallos anticonceptivos.

Marcas comerciales encontradas en Costa Rica: Gyno-Daktarin®, Gyno-Daktarin Dual®, Mixotone®, Daktarin®, Tanistin®, Micotilex®, Hongoderma®

### **Fluconazol**

También, pertenece al grupo de los antifúngicos azólicos, por lo cual ejerce su efecto mediante la alteración de la membrana celular del hongo mediante el mismo mecanismo de acción de los medicamentos anteriores, este fármaco se utiliza en candidiasis por vía oral con una dosis única de 150mg, un dato importante es que el fluconazol puede ser hepatotóxico y se debe emplear con precaución en pacientes con enfermedades hepáticas preexistentes. Si durante un tratamiento con fluconazol se desarrollasen síntomas de hepatotoxicidad, se debe discontinuar inmediatamente el tratamiento, además este medicamento se excreta principalmente por la vía renal por lo cual se debe ajustar su dosis en caso de insuficiencia renal, no se debe utilizar durante el embarazo ya que es categoría C, solamente cuando el beneficio sea mayor que el riesgo. Con respecto de su farmacocinética la absorción gastrointestinal es rápida y casi completa, su biodisponibilidad oral es superior al 90% en ayunas, sin embargo, la comida no afecta la velocidad ni el grado de absorción ya que el pH gástrico no tiene ningún efecto sobre la biodisponibilidad, además se distribuye fácilmente en tejidos, en uñas, secreciones vaginales, su eliminación es principalmente renal, y aproximadamente el 60-80% de la dosis se excreta en la orina sin cambios, y el 11% en forma de metabolitos (Lorenzo, 2008, p. 968)

Este fármaco al administrarse por vía oral puede interactuar con una innumerable cantidad de medicamentos, entre ellos: celecoxib, warfarina, ciclosporinas, benzodiazepinas, metadona, entre otros y si se utiliza con anticonceptivos se debe emplear un método de barrera para mayor seguridad, los efectos adversos más comunes que menciona Lorenzo(2008) son náuseas y vómitos, además de su hepatotoxicidad, diarreas, dolor abdominal y cefaleas.

Marcas comerciales en Costa Rica: Anuar®, Batacan®, Diflucan®, Baten®, CandiPlus®, Efac®, Konasol®, Flucolene®, Flucapsol®, Flucess®, Nofluzone®

### **Nistatina**

Su mecanismo de acción es igual que la anfotericina B, ya que se une a los esteroides formados en las membranas celulares, tanto de hongos como de células humanas. La

nistatina es generalmente fungistática in vivo, pero puede tener actividad fungicida a concentraciones altas o contra organismos extremadamente susceptibles. Actúa uniéndose a los esteroides de la membrana celular del microorganismo y formando canales iónicos en las mismas provocando cambios en la permeabilidad de membrana y la consiguiente salida de los elementos intracelulares.(Brunton, Katzung y Henández, 2016, p1184)

La dosis que se recomienda es de un óvulo de 100000 UI antes de acostarse durante 5 días, o aplicar 5g de crema 2 ó 3 veces al día durante 5 días, es categoría D en el embarazo por lo cual no se puede aplicar en este estado, los efectos adversos ocasionados por la nistatina son poco frecuentes, entre estos se encuentra principalmente la irritación a nivel local, cuando se utiliza en grandes dosis orales la nistatina puede producir leves y transitorios náuseas o vómitos, diarrea y dolor abdominal. Las formas tópicas y vaginales de nistatina han producido irritación de la piel en algunos pacientes, sobre todo debido a los conservantes que se encuentran en algunas de las formulaciones. Debido a que algunas formulaciones de suspensión oral de nistatina contienen sacarosa, se debe administrar con precaución en caso de pacientes con diabetes mellitus.

Marcas comerciales en Costa Rica:Candiprin®, Nistat®, Nistatina Alcames®

Es importante resaltar que antes de elegir un tratamiento en cualquier enfermedad relacionada a hongos, bacterias, y cualquier otro microorganismo patógeno, es recomendable realizar una prueba de sensibilidad al microorganismo que está afectando en ese momento. Con esto se puede evitar dar un tratamiento que no es el correcto y además la razón más importante por la que se recomienda realizar es para evitar que los microorganismos creen resistencia a los medicamentos ya existentes

### **Prueba de sensibilidad a antibióticos**

Los antibióticos, a manera general, son sustancias químicas producidas por un microorganismo capaz de inhibir el desarrollo de otros microorganismos, un agente antimicrobiano puede ser producido en forma natural por microorganismos o sintéticamente en el laboratorio, debido a que no se puede predecir la susceptibilidad de las bacterias, hongos y virus a los antibióticos, es necesario estudiar la sensibilidad individual de cada patógeno a estas moléculas, y de esta manera lograr elegir el tratamiento adecuado, según sea el patógeno que causa la enfermedad.(Taroco, Seija y Vignoli, 2006, p. 663)

A nivel mundial, existe una preocupación debido al aumento en la resistencia bacteriana hacia los diferentes antibióticos, ya que las bacterias han desarrollado múltiples mecanismos de resistencia, para poder contrarrestar los efectos de los antibióticos en su estructura o metabolismo, cada día esa resistencia aumenta, y es por ello que el uso de antibióticos se debe controlar, ya que se deben utilizar de forma racional y solamente en casos necesarios.(Villalobos y Herrera, 2001, párr. 1)

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos en general es una de las funciones más importantes en los laboratorios de microbiología. Su determinación se desarrolla mediante las pruebas de sensibilidad o el llamado antibiograma, en donde su principal objetivo es evaluar la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos. El antibiograma define la actividad in vitro de un antibiótico o de cualquier otro antimicrobiano frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria, hongo, parásito, etc. (García, et.al, sf, p.1)

El fin principal por el cual se realizan los antibiogramas corresponde a la importancia de reducir la resistencia que crean los microorganismos a los antimicrobianos actuales, un antibiograma es un método que se realiza con el fin de determinar la sensibilidad de una cepa bacteriana que se sospecha que es la responsable de una infección a uno o varios antibióticos, también, se pueden medir las sensibilidades de hongos y virus ante antimicóticos o antivirales respectivamente, con la utilización de un antibiograma se busca establecer el tratamiento terapéutico más eficaz y adecuado para el patógeno que esté afectando al paciente.( Taroco, Seija y Vignoli, 2006, p. 664-666)

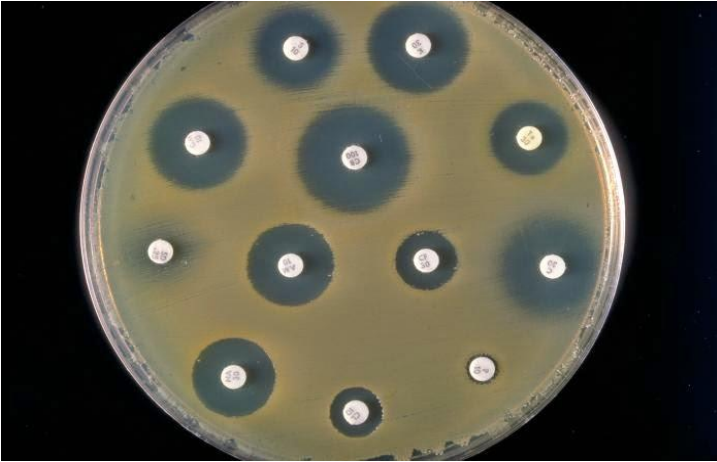
Las pruebas de sensibilidad pueden ser cualitativas o semicuantitativas, ambas se realizan de manera in vitro, los métodos cualitativos son menos precisos que los semicuantitativos y los resultados generalmente se informan en una de la siguiente manera:

- S: Susceptible
- I: Intermedia
- R: Resistente

Algunas cepas que no tienen criterios establecidos para la resistencia pueden informarse solo como susceptibles o no susceptibles. El método más comúnmente usado de difusión de discos ya que es uno de los más adecuados para los microorganismos de crecimiento rápido. Se realiza por medio de la colocación de discos impregnados con antibióticos, estos se depositan en la superficie de una placa de agar previamente inoculada con el microorganismo, luego ese disco se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano. (Taroco, Seija y Vignoli, 2006, p. 665)

Con respecto de los métodos semicuantitativos, se basan en determinar la concentración mínima de un antibiótico que inhibe el crecimiento de un microorganismo de forma in vitro. La determinación de la concentración mínima efectiva se usa principalmente para aislamientos de bacterias, incluidas micobacterias y anaerobios, y a veces para hongos, en especial del género *Candida*. La determinación de la Concentración Inhibidora Mínima según los mismos autores es la base de la medida de la sensibilidad de una bacteria a un determinado antibiótico. La Concentración Inhibidora Mínima se puede definir como: “La menor concentración de una serie de diluciones de antibiótico que provoca una inhibición de cualquier crecimiento bacteriano visible”, ese valor obtenido es fundamental, ya que actúa como referencia y permite establecer una escala de actividad del antibiótico frente a diferentes especies bacterianas.(p. 663)

Figura 5. Prueba de sensibilidad a antibióticos



Fuente: García(2014)

### **Reino Plantae**

Dentro de este reino se encuentran los organismos eucariotas, inmóviles y autótrofos llamados plantas, las cuales son imprescindibles en el desarrollo de la vida ya que estos organismos generan el oxígeno que todos los demás organismos en el mundo necesitan para sobrevivir, la ciencia que se encarga de estudiar las plantas se denomina: Botánica, la cual se define como: “ Aquella parte de la ciencia natural que tiene como objeto el estudio de los vegetales, tanto bajo su aspecto microscópico y molecular, como macroscópico y funcional”. (Anara, Correa y Oggero,2014, pp.17-18)

### **Características generales del Reino Plantae**

En la Bioenciclopedia (2015) se mencionan algunas características de las plantas, entre ellas:

- Son organismos pluricelulares.
- Son inmóviles.
- Contienen clorofila, que es la sustancia responsable del color distintivo de la mayor parte de las plantas, además esta sustancia capta la energía que proviene del sol y es usada para realizar la fotosíntesis
- Son autótrofos, lo que quiere decir que pueden producir su propio alimento a partir de la materia inorgánica.

### **Plantas Medicinales**

Desde el inicio de la historia el hombre ha recurrido a los remedios obtenidos de la naturaleza, cuando los antepasados identificaron la enfermedad y tuvieron conciencia de ésta, comenzaron a buscar maneras de mejorar la salud con remedios a base de sustancias naturales, recolectando y preparando ellos mismos sus medicinas, ciertos individuos tenían la capacidad de identificar las plantas que funcionaban no solo como alimento, sino también como medicina natural para combatir las enfermedades que se presentaban entre ellos, de hecho identificaban cual era la parte de la planta que tenía mejor eficacia. (Rodríguez et al, 2015, p.43).

Fue así, según el autor anterior como algunas personas se especializaban en el uso de las plantas, surgiendo los chamanes quienes se consideran los primeros médicos de la historia, los cuales basaban su conocimiento en la observación, en algunas ocasiones relacionaban las formas de las plantas con el órgano afectado por la enfermedad o incluso observaban como los animales heridos al morder, lamer o ingerir ciertas plantas obtenían una mejoría notable de su condición. (p.43).

### **Farmacognosia**

Todos los conocimientos que obtenían los antepasados se fueron transmitiendo de generación en generación, hasta la actualidad, siendo estos conocimientos la base para el desarrollo de la farmacognosia la cual es una de las ciencias más antiguas ya que el hombre desde el principio de la historia la practicaba y con ello la elaboración de innumerables productos a base de extractos naturales con capacidad de actuar en diversas patologías, la farmacognosia se define como: “Ciencia que se ocupa del estudio de las drogas y las sustancias medicamentosas de origen natural, vegetal, microbiano y animal.”(Hernández, 2014,p.8).

Según Hernández (2014) la farmacognosia tiene la capacidad de estudiar y de identificar los posibles efectos terapéuticos de las plantas y sus aceites esenciales, además de su posible uso ante diversas patologías, sin embargo, esta ciencia también se encarga de investigar y dar a conocer también la actividad tóxica de dichas plantas, actualmente el desarrollo de la farmacognosia ha aumentado con el excesivo consumo y desarrollo de fitofármacos en la industria farmacéutica.(pp.8-9)

### **Aceites esenciales**

Los aceites esenciales, según Stashenco, 2009 son sustancias volátiles que se obtienen de las plantas, es un líquido aromático de aspecto fluido o espeso y de color variable, según las plantas de las que esté extraído se encuentran compuestos de diversas moléculas, entre ellas hidrocarburos, cetonas, alcoholes, aldehídos, fenoles, éteres, ésteres, entre otros, estas sustancias generalmente son metabolitos secundarios de las plantas, los cuales se caracterizan por ser mensajeros químicos que las plantas aromáticas utilizan para interactuar con su entorno, les permiten alejar las enfermedades y los parásitos, pero también, tienen un papel protector frente a los rayos del sol. Los aceites esenciales tienen un papel importante en la reproducción y dispersión de las especies vegetales que permiten atraer a los insectos polinizadores, una vez que se producen los aceites esenciales, se almacenan en diversos sitios de las plantas, generalmente estas sustancias se obtienen por arrastre de vapor.(pp. 13-15)

Los aceites esenciales, en general, constituyen del 0,1 al 1% del peso seco de la planta, son líquidos con escasa solubilidad en agua, solubles en alcoholes y en disolventes orgánicos. La mayoría cuando están frescos, a temperatura ambiente, son incoloros, y al oxidarse toman un color amarillento oscuro. La mayoría de los aceites son menos densos que el agua y con un alto índice de refracción. Son generalmente mezclas complejas de constituyentes muy variables entre ellos los terpenos y, en menor medida, al grupo de los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano como aldehído cinámico, eugenol, anetol, aldehído anísico y safrol.(López, 2004, pp.88-89)

### **Aplicaciones de los aceites esenciales**

- **Farmacológicas:** se utilizan en farmacia para la obtención de diversos principios activos o como excipientes y aromatizantes en la preparación de jarabes, suspensiones, elixires y otras formas farmacéuticas.
- **Cosméticas** En perfumería y cosmética los aceites esenciales son utilizados ampliamente. El empleo en perfumería es muy importante debido, a las cualidades olfativas de los aceites esenciales.

- **Aroma-terapéuticas** En relación directa con los aceites esenciales ha surgido la denominada aromaterapia, que es una disciplina dentro de la medicina natural que emplea básicamente aceites esenciales en sus tratamientos. El término aromaterapia fue utilizado por primera vez por el químico francés René Maurice Gatefossé, especializado en los usos cosméticos de las esencias. (López,2004, p.89)

### **Propiedades terapéuticas de los aceites esenciales**

Desde el punto de vista farmacológico, las propiedades de los aceites esenciales son muchas debido a la gran cantidad y variabilidad de sus componentes, se han encontrado algunas de estas acciones, por sus efectos sobre la piel, incluso también se ha encontrado su aplicación en cosmética. Es importante tener en cuenta que los aceites esenciales son potencialmente tóxicos a pesar de estar considerados como productos naturales poco peligrosos, ya que simplemente puede darse una sobredosificación. Además, algunos muestran una toxicidad específica por tener componentes que atraviesan la barrera hematoencefálica y que afectan al sistema nervioso central. Entre las acciones farmacológicas de los aceites esenciales las más destacables son las siguientes:

- **Antisépticos:** Esta acción antiséptica se manifiesta frente a un gran número de bacterias patógenas e incluye ciertas cepas antibiorresistentes. Algunos aceites son también activos frente a hongos inferiores responsables de micosis e incluso frente a levaduras.
- **Espasmolítico:** Diversos aceites esenciales son eficaces en disminuir o suprimir los espasmos gastrointestinales, generalmente intensifican la secreción gástrica, por lo que se han calificado de digestivos.
- **Propiedades irritantes:** se utilizan por vía externa, algunos producen un aumento de la microcirculación, y poseen propiedades rubefacientes y por ende sensación de calor y, en ciertos casos, ligera acción anestésica local. (López, 2004, p.90)

### **Vías de administración de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales, según su nivel de toxicidad se pueden administrar por vía tópica o por vía oral, la vía tópica se prefiere utilizar en caso de situaciones que afecten la piel, en este caso, se utilizan aceites para masaje corporal, los cuales se obtienen al incorporar a un aceite vegetal una cantidad de aceite o aceites esenciales, además se pueden realizar preparaciones a base de sustancias oleosas y añadirles aceites esenciales para crear o formular una crema o un ungüento, incluso se pueden efectuar baños aromáticos, sin embargo esta vía de administración presenta inconvenientes a la hora de la poca solubilidad de los aceites en agua, por lo que se debe de añadirles solubilizantes.

La vía olfativa es muy utilizada principalmente con aquellos aceites esenciales que tienen propiedades respiratorias y que alivian síntomas de irritación y alergias, esta vía corresponde a un procedimiento antiguo, pero muy eficaz en caso de resfriado o de sinusitis. Otra vía que se puede utilizar es la oral, aunque ésta no es muy recomendada debido a la poca información acerca de la toxicidad de los aceites esenciales, por lo cual éste debe ser un tema que se debe continuar investigando para en un futuro desarrollar potenciales medicamentos que se administren por vía oral y así aprovechar las propiedades de dichas sustancias.(López,2004, p.91)

### **Extracción de aceites esenciales**

Según la autora Stashenko (2014) los aceites esenciales se pueden extraer principalmente de tres maneras:

- Arrastre por vapor: este se lleva a cabo con un vapor seco sobrecalentado que penetra el material vegetal a una presión más alta que la atmosférica, el calor rompe las células en las plantas y se extrae el aceite que se condensa, los aceites suelen ser insolubles en agua por lo cual pueden separarse por decantación, sin embargo, el aceite de clavo de olor es más pesado que el agua.
- Destilación agua-vapor: se utiliza un vapor húmedo que proviene del agua de ebullición que traspasa el material,
- Hidrodestilación: consiste en sumergir directamente la planta en agua, y calentarla hasta hervir, generalmente se utiliza para extraer aceites de materiales delicados, como por ejemplo hojas.(p. 16)

## Destilación

La técnica de destilación se utiliza para separar y purificar líquidos, ésta constituye una de las principales técnicas para purificar líquidos volátiles. En la destilación se emplea la diferencia entre los puntos de ebullición de las sustancias que constituyen la mezcla, la destilación contiene dos fases, la primera es la vaporización del líquido y la condensación. Existen varios tipos de destilación, la elección en cada caso se hace de acuerdo con las propiedades del líquido que se pretenda purificar y de las impurezas que lo contaminan. La destilación consiste en calentar el contenido hasta llegar al punto de ebullición, condensar los vapores obtenidos y recolectarlos como líquidos destilados. (Lamarque, 2008, p.29)

Según el mismo autor la destilación contiene varios tipos, los cuales se describen a continuación:

- Destilación simple: Es una técnica que se usa en la purificación de líquidos con un punto de ebullición menor de 150° C a la presión atmosférica y se utiliza para eliminar impurezas no volátiles, además también, se puede utilizar para separar líquidos cuyos puntos de ebullición difieran al menos en 25° C.
- Destilación al vacío: Esta técnica se emplea en la separación de líquidos con un punto de ebullición mayor a 150°C, como un líquido hierve cuando su presión de vapor iguala a la presión externa, se puede reducir el punto de ebullición disminuyendo la presión a la que se destila. La cual se conoce como destilación a presión reducida o destilación al vacío. La destilación al vacío se utiliza cuando el líquido tiene un punto de ebullición muy alto.
- Destilación fraccionada. Es una técnica que se emplea en la separación de sustancias cuyos puntos de ebullición difieran entre sí menos de 25°C. Se diferencia de la destilación simple porque se tiene la presencia de una columna de fraccionamiento entre el matraz y la cabeza de destilación.
- Destilación por arrastre de vapor: Este tipo de destilación es una técnica aplicada en la separación de sustancias poco solubles en agua. La destilación por arrastre de vapor se emplea para separar una sustancia de una mezcla que posee un punto de ebullición muy alto y que se descomponen al destilar. También, se utiliza para purificar sustancias contaminadas por grandes cantidades de impurezas y para

separar disolventes de alto punto de ebullición de sólidos que no se arrastran.(pp. 30,31,32)

### Destilación por arrastre de vapor

Es el método más común para extraer aceites esenciales, en donde se aprovecha la propiedad que tienen las moléculas de agua en estado de vapor de asociarse con moléculas de aceite. La extracción se realiza cuando el vapor de agua entra en contacto con el material



vegetal y libera la esencia o aceite, para luego ser condensada. El vapor de agua provoca que los aceites esenciales se difundan desde las membranas de la célula hacia fuera, los vapores de agua y aceite esencial que salen, se enfrían hasta regresar a la fase líquida, y se separan en un decantador. (Peredo, Palou y

López,2009, p. 26)

Figura 6 Equipo de destilación por arrastre de vapor

Fuente: Hernando(2013)

### **Extracción**

La extracción es una técnica de separación que se puede aplicar a todo tipo de mezclas, tanto sólidas, líquidas o gaseosas. La extracción se basa en la diferencia de solubilidad de los componentes de una mezcla en un disolvente adecuado. La forma más sencilla de realizar una extracción consiste en tratar la mezcla de compuestos con un disolvente de manera que uno de los componentes se disuelva y los demás no.( Peredo, Palou y López,2009, p. 27)

### **Extracción por el método Soxhlet**

Este tipo de procedimiento permite realizar la extracción de muestras sólidas con disolventes, generalmente conocida como extracción sólido-líquido con aporte de calor, La extracción Soxhlet se considera el método estándar de extracción de muestras sólidas y actualmente, es el principal método de referencia con el que se comparan otros métodos de extracción.(Núñez, 2008, p. 2,3)

En este método la muestra se pulveriza, se coloca en un cartucho de material poroso del extractor Soxhlet, posteriormente se calienta el disolvente en el matraz , se condensan sus vapores que caen, gota a gota, sobre el cartucho que contiene la muestra, extrayendo las partículas, el proceso básicamente consiste en que cuando el nivel del disolvente condensado en la cámara del equipo alcanza la parte superior del sifón lateral, el disolvente con los analitos disueltos, asciende por el sifón y retorna al matraz de ebullición repitiendo el proceso hasta que se complete la extracción de la muestra.

La extracción con Soxhlet presenta diversas ventajas, una de ellas es que la muestra está en contacto directo con el disolvente el cual se encuentra caliente, favoreciendo la solubilidad de los analitos, un dato importante es que no es necesaria la filtración después de la extracción y por último, se obtienen cantidades buenas de aceites esenciales, sin

embargo una gran desventaja de este método es el tiempo que tarda en realizar la extracción ya que puede llevar de 6 a 24 horas, según la cantidad de aceite a extraer.(p. 4)

### **Farmacoergasia**

La farmacoergasia como define Hernández (2014) es: “Estudio del cultivo, recolección, secado, almacenamiento y conservación de las plantas, así como los factores que influyen en la calidad de la droga vegetal”, es por ello que se definen el hábitat y el clima en el que se desarrollen las plantas como factores imprescindibles en el crecimiento de una planta medicinal de calidad. (p.10)

La farmacoergasia al evaluar la calidad de la planta estudia los factores que pueden afectar el metabolismo de las plantas medicinales, como mencionan Debenedetti y Wilson(2014) estos son algunos de esos factores:

#### 1. Factores Climáticos:

- Temperatura
- Humedad
- Radiación o exposición solar
- Vientos

#### 2. Factores edáficos:

- Características químicas como el pH del suelo ya que existen plantas que requieren un suelo alcalino y otras lo requieren ácido
- Características físicas como la porosidad de los suelos donde crecen las plantas, retención de agua y temperatura
- Microorganismos

Para que se dé un uso adecuado y se creen productos de calidad a base de extractos de plantas medicinales la farmacoergasia define las etapas que se deben desarrollar a la hora de la recolección de las plantas medicinales, ya que incluso algunos factores como madurez de la planta y la hora del día pueden afectar la calidad del producto que se desee desarrollar con los extractos de las plantas, es por ello que se definen las siguientes etapas:

recolección, conservación, métodos de desinfección, molienda y almacenamiento.(Hernández,2014, p.11)

### **Recolección**

La recolección se debe realizar cuando la planta tenga la concentración máxima de principios activos, considerando la edad de la planta, además se debe considerar el momento del día cuando se va a realizar la recolección.La Organización Mundial de la Salud(2003) menciona que: “Las materias vegetales medicinales deben recolectarse durante la temporada o período óptimos para asegurar la calidad óptima tanto de las materias primas, como de los productos acabados”, además durante la recolección es importante eliminar las partes de las plantas que no sean necesarias, además de utilizarse los materiales adecuados de recolección.(pp.27-28)

### **Conservación**

Al ser desplazada la planta de su ambiente natural se altera su equilibrio metabólico, lo cual hace que se alteren las características de sus componentes activos, por lo cual se debe evitar la degradación de los principios activos ya que le puede restar eficacia al producto que se desee realizar, razón por la cual, según Hernández (2014) las plantas recolectadas se someten a procesos como desecación, inhibición enzimática y liofilización para evitar que se pierdan cantidades de los principios activos presentes.

### **Desinfección**

Ciertos tipos de plantas se deben someter a controles estrictos para que no se dé la proliferación de microorganismos oportunistas que pueden afectar la integridad de la planta y,por ende, del producto que se desea realizar, ya que el material vegetal cosechado puede tener alta contaminación de patógenos para el ser humano, que pueden provenir del suelo o de manipulaciones incorrectas a la hora de la cosecha, por lo cual la Organización Mundial de la Salud recomienda métodos de lavado y desinfección de las plantas medicinales, entre ellos radiaciones gamma y dióxido de carbono.(Hernández,2014,p.11)

### **Molienda**

Este etapa el mismo autor define que es en la cual a la droga se le reduce su tamaño de partícula, para facilitar la preparación del producto final, así como el almacenamiento del extracto natural.(p.11)

### **Almacenamiento**

Esta etapa es una de las más importantes, ya que el objetivo fundamental del almacenamiento es conservar de manera intacta las características de los extractos previamente tratados, para su almacenamiento adecuado de deben seguir una serie de condiciones, entre ellas almacenarlos en un lugar fresco ya que el calor en diversas ocasiones puede deteriorar la integridad de los principios activos de la droga, además se deben mantener sin humedad ya que ésta puede hidrolizar la droga, la luz es otro factor fundamental, ya que se deben almacenar con poca exposición a la luz a la cual ésta puede catalizar la degradación de los principios activos y por último se deben proteger de la oxidación ya que el contacto con el aire puede facilitar este proceso.(Hernández,2014,p.12)

### **Fitofarmacología**

Con el desarrollo de la farmacognosia, se describen nuevos métodos o alternativas que se le pueden aplicar a la medicina convencional, es por ello que se crean terapias alternativas a base de extractos de plantas medicinales, surgiendo así la fitofarmacología, la cual Hernández (2014) la define como: “Rama de la farmacología que se orienta al estudio de los extractos estandarizados de plantas medicinales.”(p.15)

Además esta rama se encarga de analizar, investigar y conocer los mecanismos de acción, los receptores en los cuales van a actuar los fitofármacos, para de esta manera predecir los posibles efectos terapéuticos, adversos, indicaciones y contraindicaciones. (Morales,2006,párr.1)

### **Fitofármaco**

Cea (2013) menciona que la Organización Mundial de la Salud, define a los fitofármacos, como: “Productos obtenidos por procesos tecnológicamente adecuados, empleando exclusivamente materias primas vegetales, con finalidad profiláctica, curativa, paliativa o para fines de diagnóstico.”(p.2)

En Europa, según el mismo autor los fitofármacos actualmente forman parte de los medicamentos oficiales los cuales deben cumplir con altos estándares de calidad, seguridad y eficacia, mientras que en América Latina aún se continúan realizando investigaciones acerca del tema ya que la investigación a fondo es la única que puede garantizar que los

fitofármacos puedan ser una alternativa farmacéutica a los medicamentos sintéticos.(pp.2-3)



Según Hernández (2014) un fitofármaco se puede preparar a partir de:

- Las partes vegetales cortadas o pulverizadas
- Jugos de las plantas
- Tinturas, maceraciones y destilados de las plantas
- Aceites esenciales de las plantas

#### **Clavo de olor (*Syzygium aromaticum*)**

El clavo de olor es una especie que pertenece a la familia Myrtaceae y habita principalmente ambientes de clima tropical, su nombre científico es *Syzygium aromaticum*, aunque también se puede encontrar en la literatura como *Eugenia Caryophyllata*, este árbol es originario de indonesia, y se conoce como clavo de olor a sus botones florales secos, estos poseen un fuerte olor, además de exudar aceite al presionarlos. Los tallos, las hojas y los botones florales han sido utilizados para extraer su aceite esencial, al cual se le atribuyen propiedades analgésicas, antisépticas, antibacterianas y antifúngicas.(Aguilar y López, 2013, p.36)

Figura 7 Botones florales

Fuente: Sánchez(2016)

### **Taxonomía**

Según el CIMED (2002) la taxonomía del clavo de olor se puede clasificar de la siguiente manera(p.28):

Tabla 2 Taxonomía de la planta de clavo de olor

Reino	<b>Plantae</b>
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Myrtales
Familia	Myrtaceae
Subfamilia	Myrtoideae
Tribu	Syzygieae
Género	Syzygium
Especie	Syzygium aromaticum

Fuente: Elaboración propia (2017)

### **Hábitat**

Según el CIMED, 2002 el clavo de olor es nativo de las islas Molucca y la región sur de las Filipinas, y se ha cultivado en sitios tropicales como islas de África, Madagascar, Malasia, Tanzania, además también, se ha cultivado en países de América del Sur como por ejemplo Brasil, esta planta ha sido utilizada a lo largo de la historia como un condimento gracias a su aroma característico, sin embargo, se le han atribuido propiedades analgésicas ya que desde tiempos pasados se ha utilizado en gran cantidad para dolores dentales, además de sus propiedades antisépticas y antibacterianas, las cuales se han estudiado con mayor frecuencia en los últimos años.(pp. 27-28)

### **Descripción de la planta**

La planta consta de las hojas, el tallo, la raíz, las flores y los frutos, las partes a las cuales se le atribuyen sus propiedades medicinales son principalmente sus frutos secos, los cuales contienen el aceite esencial, sus flores y frutos contienen pedúnculos pequeños, el

tubo del cáliz contiene una estructura cilíndrica de aproximadamente 1 a 1,5cm de largo y contiene cuatro pétalos, además su fruto mide de 2 a 2,5cm de largo y en su interior posee una semilla pequeña.

Con respecto de sus hojas, el tallo y la raíz, el árbol tiende a alcanzar aproximadamente unos 20 metros de altura con un tronco de 40 cm de ancho con múltiples ramas a su alrededor, además sus hojas miden de 9 a 12 cm aproximadamente y poseen formas elípticas. (Centro Nacional de Información de Medicamentos, 2002, p.28)

Figura 8 Planta del clavo de olor



Fuente: Pérez(s.f)

### Usos y propiedades de la planta

Según el CIMED (2002) el clavo de olor se ha utilizado desde la antigüedad como antiséptico, analgésico, antibacteriano, y antiviral, además se utiliza también para estimular la digestión y el apetito, aunque también se ha utilizado como antiemético y

expectorante, las propiedades antihistamínicas y espasmolíticas se le atribuyen a la presencia del acetato de eugenol en su aceite esencial.

Se utiliza como analgésico ya que inhibe la biosíntesis de prostaglandinas, la formación de tromboxanos B<sub>2</sub> y la agregación plaquetaria producida por el ácido araquidónico, además se ha estudiado que la combinación del eugenol presente en el aceite esencial se puede combinar con otros agentes antimicrobianos para potenciar su acción.(p.29)

### **Aceite esencial de clavo de olor**

El aceite esencial del clavo de olor se extrae de sus botones florales secos, estos contienen un porcentaje muy alto de aceite, es un líquido color amarillo-marrón con aroma característico y soluble en etanol, es un aceite esencial fotosensible por lo cual posee condiciones de almacenamiento especiales, durante muchos años se han realizado estudios acerca de las propiedades principales que contiene este aceite, llegando a la conclusión que contiene efectos antibacterianos, antisépticos, fungicidas y analgésicos, además todas estas propiedades básicamente se le atribuyen a su componente principal: el eugenol(Aguilar y López,2013, pp.37-38)

El aceite esencial se compone básicamente de eugenol, sin embargo, tiene otros componentes como la forma libre del eugenol en acetato de eugenilo, además del caviacol, el 4-alil-fenol, esteroides,  $\alpha$  y  $\beta$ -cariofileno y  $\alpha$  y  $\beta$ -humuleno,calacoreno y  $\beta$  amirina(Veloz, 2012,p.42)

Figura 9 Aceite esencial del clavo de olor



Fuente: Santana(2016)

### **Componentes químicos del aceite esencial de clavo de olor**

Los componentes químicos del clavo de olor son los responsables de sus propiedades medicinales, según Díaz (2016) dentro de los principales se encuentran:

-Aceite esencial: el cual se describe como un líquido amarillento, con un olor característico e intenso, el aceite es soluble en alcohol e insoluble en agua.

-Fitoesteroles: los cuales son esteroides de las plantas en donde cumplen la función que cumple el colesterol en animales ya que al formar parte de la membrana celular repara y forma nuevas células.

-Taninos: Son compuestos fenólicos por lo que en su estructura tienen un grupo fenol, un grupo funcional y un anillo aromático, los taninos protegen a la planta de los microorganismos patógenos.

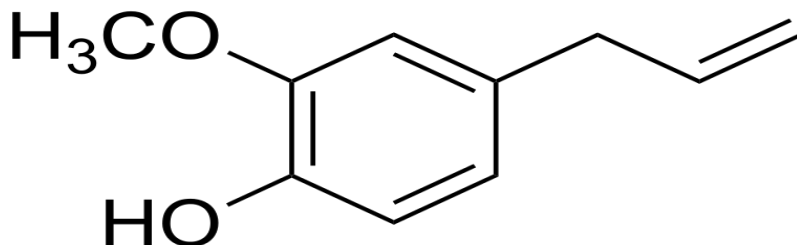
-Flavonoides: Son compuesto fenólicos, son básicamente pigmentos que contienen las plantas y que la protegen de daños oxidantes. En su estructura química contienen varios grupos hidroxilo fenólico.(p.13)

## Eugenol

Es uno de los principales componentes del aceite esencial del clavo de olor, es un derivado fenólico, su nombre químico es 2 metoxi-4-(2propenil) fenol, representa aproximadamente el 75-88% del aceite del clavo de olor, también puede extraerse de pimienta, hojas de laurel, canela, alcanfor y otros aceites, además a este componente se le atribuyen propiedades analgésicas, antisépticas, antibacterianas y antifúngicas, siendo sus propiedades antisépticas mayormente utilizadas en odontología. (Veloz, 2012, pp. 43-44)

Una de las propiedades del eugenol es el alivio del dolor a nivel dental ya que es un bloqueador irreversible de la conducción nerviosa capaz de reducir la transmisión sináptica de la zona neuromuscular, inhibe la ciclooxigenasa, obteniendo un efecto analgésico y anestésico al lograr la inhibición de la biosíntesis de las prostaglandinas, además tiene propiedades bactericidas, antifúngicas y antisépticas las cuales se le atribuyen a los fenoles por degeneración de las proteínas, lo que produce un daño a la membrana celular, el eugenol inhibe el crecimiento de varios organismos fúngicos patógenos, ya sea solo o combinado con otros aceites esenciales. (pp. 45-46)

Figura 10 Molécula del eugenol



Fuente: USP29 (2017)

## Mecanismo de acción

El aceite esencial de clavo de olor, tiene diferentes mecanismos de acción mediante los cuales ejerce sus efectos terapéuticos, es importante destacar que sus mecanismos de acción en el organismo se le atribuyen principalmente al eugenol, ya que es un bloqueador irreversible de la conducción nerviosa y en concentraciones bajas, es capaz de reducir la transmisión sináptica de la zona neuromuscular, además el Eugenol inhibe la ciclooxigenasa, produciendo efecto analgésico y anestésico al inhibir la biosíntesis de las

prostaglandinas, a bajas concentraciones el Eugenol inhibe la actividad nerviosa de forma reversible, como un anestésico local, sin embargo posterior a la exposición de altas concentraciones de Eugenol, la conducción nerviosa es bloqueada irreversiblemente, produciendo un efecto neurotóxico.(párr..5)

Con respecto de su efecto bactericida, la misma autora menciona que es efectivo a altas concentraciones, esta acción se le atribuye a los fenoles por degeneración de las proteínas, lo que resulta en daño a la membrana celular.(párr. 8)

### **Toxicidad**

Como menciona Souza y Pereira (2014) se ha determinado que el aceite del clavo de olor es relativamente seguro si se consumen menos de 1500mg por kilogramo de peso en humanos.(pp. 5-6), además el CIMED (2002) menciona que se ha probado en ratas y que la dosis letal media es de 2680mg por kilogramo de peso por vía oral.

En adultos la dosis peligrosa corresponde a más de 3 gramos y en niños 0,5 gramos, además se ha observado que la ingesta de más de 4,5mL de aceite esencial puede causar toxicidad del sistema nervioso central, además de trastornos urinarios y acidosis.(p.30)

Además González (2002) menciona que a pesar de que su uso es muy común, puede provocar lesiones superficiales cuando es aplicado de forma directa y a altas concentraciones en los tejidos blandos, sin embargo, la gravedad del daño es proporcional al tiempo de exposición, a la dosis y a la concentración.(párr.. 11)

### **Coco (*Cocos nucífera*)**

El coco, conocido también por nombres como: cocotero o palma de coco, es el fruto de una especie de palmera de la especie *Arecaceae*, su nombre científico es *Cocos nucífera*, en donde la terminación *nucífera* hace referencia a que la palma produce nueces, en la actualidad, se desconoce su origen, sin embargo, aún se discute si la planta es originaria de las costas tropicales asiáticas o de las americanas.(Bioenciclopedia, 2016, párr.1)

Figura 11 Cocotero



Fuente: Paz(2013)

### **Taxonomía**

Carlos lineo en 1753, fue el primer botánico que describió el cocos nucífera, clasificándolo de la siguiente manera:

Tabla 3 Taxonomía de la planta del coco

Reino	<b>Plantae.</b>
División	Magnoliophyta.
Clase	Liliopsida.
Orden	Arecales.
Familia	Areaceae
Subfamilia	Arecoideae.
Género	Cocos
Especie	Cocos nucifera

Fuente: Elaboración propia (2017)

### **Hábitat**

Su hábitat no se tiene claro en la actualidad, sin embargo, en la Bioenciclopedia (2016) se describe que es nativo de regiones tropicales y subtropicales, algunos botánicos piensan que las plantas del coco se originaron en el continente americano, o en la región del Indo-Pacífico, en la actualidad, la planta está distribuida principalmente en los trópicos y es muy

común en la zona caribeña, las costas del Atlántico en Sudamérica y África y las islas del Pacífico en donde crece de manera natural en las orillas de dos ríos.(párr.. 4-5)

### Descripción de la planta

La planta del coco es una palmera típica de las que se encuentran en las playas tropicales, bioenciclopedia(2002) menciona que la planta puede medir hasta 30 metros de altura. El tronco es robusto y mide entre 30 y 45 centímetros de diámetro; en su base abultada suele observarse raíces delgadas y enrevesadas, no posee ramas laterales, las hojas generalmente miden 4-6 metros de longitud son pinnadas, por lo que cuentan con varios foliolos a lo largo del eje principal., la planta además, contiene flores pequeñas que crecen en inflorescencias en las axilas de cada hoja, son de un color amarillo claro, luego de la floración aparecen los cocos, los cuales son de forma redonda, son una sola semilla fibrosa, seca, con 3 capas: el epicarpio o capa exterior de color verde o amarillo, el mesocarpio o capa media y el endocarpio o capa interna, que rodea la semilla., una palmera de este tipo puede llegar a producir de 75 a 200 cocos por año, y cada coco puede pesar de 1,5kg-2,5kg. (párr..2-3)

Figura 12 Palma del coco



Fuente: Brandao(2016)

### **Aceite de coco**

El aceite de coco color físicamente es de color amarillo, sin embargo, en ambiente toma un color más oscuro, se encuentra conformado aproximadamente por un 86 a 91 % de ácidos grasos saturados, entre ellos los más comunes y abundantes son el ácido láurico, caprílico y palmítico, a pesar de que se encuentra formado por un alto porcentaje de ácidos grasos saturados, estos son de cadena corta, por lo cual son quemados rápidamente y son utilizados como fuente de energía por lo cual no se utilizan en el cuerpo para la síntesis de colesterol. (Granados, López, 2002, p. 43)

La calidad del aceite de coco va a depender de su origen o tipo, ya que existen diversos tipos de aceites, entre ellos se encuentra el aceite refinado, el cual se obtiene del coco desecado, este tipo de coco no tiene propiedades medicinales, sino solamente comestibles, también se encuentra el aceite de coco hidrogenado, a éste se le aplica una técnica de hidrogenación el que es un proceso mediante el cual se transforma el aceite vegetal en una grasa sólida, a partir de la adición de hidrógeno a alta presión, elevada temperatura y en presencia de un catalizador. Durante el proceso, el aceite vegetal, cambia su estructura natural por una artificial, por lo cual es perjudicial a nivel cardiovascular y un consumo elevado se relaciona con ciertos tipos de cáncer.(Llargués, 2016, p.27)

También, según, el mismo autor se encuentra el aceite de coco líquido, el cual es altamente refinado, a éste se le ha extraído el ácido láurico, por lo que tampoco es aconsejable su consumo o uso tópico, y por último, se encuentra el aceite de coco virgen, el cual conserva todas las propiedades y es por ello que debe utilizarse como primera opción.(p.28)

### **Composición del aceite de coco**

Según Ebmandal y Mandal,2011 el aceite de coco se compone de ácidos grasos, entre ellos el ácido caprílico, el ácido cáprico, el ácido láurico, palmítico, mirístico,esteárico, aléico, linoleico, entre otros, los cuales se describen en la siguiente imagen.(p.244)

Tabla 4. Composición del aceite de coco

<b>Ácido graso</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Tipo de grasa</b>
<b>Ácido láurico</b>	45%-52%	Saturada
<b>Ácido mirístico</b>	16%-21%	Saturada
<b>Ácido caprílico</b>	5%-10%	Saturada
<b>Ácido cáprico</b>	4%-8%	Saturada
<b>Ácido caproico</b>	0,5%-1%	Saturada
<b>Ácido palmítico</b>	7%-10%	Saturada
<b>Ácido oleico</b>	5%-8%	No Saturada
<b>Ácido palmitoleico</b>	Rastros	Saturada
<b>Ácido linoleico</b>	1%-3%	No Saturada
<b>Ácido linolenico</b>	Hasta un 0,2%	No Saturada
<b>Ácido esteárico</b>	2%-4%	Saturada

Fuente: Elaboración propia(2017)

### **Usos industriales del aceite de coco**

El coco es ampliamente utilizado en la industria comestible, ya que como la mayoría de aceites y grasas sirve como fuente de energía en la dieta humana, aporta nutrientes y es un agente solubilizador de vitaminas, se ha estudiado su aporte calórico, logrando identificar que aporta 9 Kcal de energía por gramo, el aceite de coco tiene un sabor suave, olor agradable y fácil digestibilidad. Debido a la composición de ácidos grasos y triglicéridos, el aceite de coco es de color blanco y de consistencia sólida hasta una temperatura de 22 a 25°C, razón por la cual se usa en la fabricación de manteca vegetal, margarina y mantequilla artificial, además de productos utilizados en confitería. A partir de aceite de coco también se fabrica detergente de ropa, jabón, champú y cosméticos. (Debmandal y Mandal,2011, pp. 245,246)

### Usos medicinales del aceite de coco

Estudios recientes demuestran que el aceite de coco además de ser útil en la industria alimenticia y cosmética, también es útil en medicina, ya que, contiene diversas propiedades medicinales, entre ellas se describe la propiedad antioxidante ya que según Debmandal y Mandal (2011) el aceite de coco contiene la capacidad de reducir la producción de radicales libres, además mencionan que contiene vitamina C la cual disminuye la peroxidación lipídica, además este aceite contiene efectos cardioprotectores, contrario a lo que se cree popularmente el aceite de coco no participa en la biosíntesis del colesterol, ya que se absorbe rápidamente en el intestino y es dirigido al hígado para que se metabolice y genere energía, además es un excelente antiséptico urinario, se utiliza para el tratamiento de cálculos renales y uretrales, ya que el aceite tiene la capacidad de disolverlos cuando estén formados por colesterol.(pp. 243,244,245)

También, se le atribuyen propiedades antibacterianas, antivirales, antisépticas y antifúngicas, los mismos autores mencionan que estas propiedades se le atribuyen al ácido áurico, el cual es el responsable de ejercer esos efectos, ya que compone casi el 50% de los componentes de aceite de coco, sus propiedades antibacterianas y antifúngicas radican principalmente en que actúa destruyendo la membrana lipídica de los microorganismos por lo cual puede ser efectivo en patógenos que colonicen el tracto gastrointestinal, genital y urinario principalmente ante patógenos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus Aureus* y *Candida albicans*. (p. 244)

Se ha comprobado que concentraciones de aceite de coco del 5 al 40% tienen una actividad marcada como antibacteriano, se ha indicado su uso en infecciones por *Candida Albicans*, se realizaron estudios en donde se determinó su eficacia y se realizaron comparaciones con el fluconazol, en donde se observó que el aceite de coco fue realmente efectivo en las cepas de dicho patógeno. El ácido láurico es un bactericida y debido a la alta cantidad de ácido láurico que contiene, el aceite de coco tiene propiedades antivirales, antibacteriales y antiprotozoarios ya que el cuerpo convierte el ácido láurico en monolaurin, el cual es un monoglicérido que puede destruir virus como: Herpes, Sarampión, Virus de la influenza, Varias bacterias patógenas y protozoarios ( Ogbolu et al, 2007, párr. 1)

## Ácido láurico

El ácido láurico como menciona Mora (2003) es un ácido graso saturado de cadena media, se encuentra en los aceites láuricos hasta en un 50% y en la grasa láctea, su nombre sistemático es ácido dodecanoico, su fórmula química es  $C_{12}H_{24}O_2$  tiene un peso molecular de 200.32 g, tiene un punto de ebullición de  $130^{\circ}C$  y un punto de fusión de  $45^{\circ}C$ . El ácido láurico es insoluble en agua y soluble en etanol, este tipo de ácido graso es ventajoso con respecto de los de cadena larga, ya que absorbidos y transportados más fácil y rápidamente que los triglicéridos de cadena larga.(pp 79-80)

En la actualidad existen reportes de las propiedades antivirales, antibacteriales y antiprotozoarias atribuidas al ácido láurico y su monoglicérido, además es una fuente energética de rápida disponibilidad, razón por la cual son empleados como ingredientes de



fórmulas  
infantiles,  
debido a su  
rápida  
absorción se

puede utilizar en suplementos para deportistas de alto rendimiento y para soporte nutricional de pacientes con patologías que cursan con cuadros de malabsorción.(Mora, 2003, p. 80,81.)

Figura 13, Molécula de ácido láurico

Fuente: Derouiche (2015)

## Mecanismo de acción

El aceite de coco se encuentra conformado principalmente en mayor cantidad por el ácido láurico, el cual se transforma en el cuerpo en su monoglicérido llamado monolaurina

el cual destruye la bicapa lipídica de virus, bacterias, protozoos y hongos por diversos mecanismos: en los virus, evita su ensamble y maduración y provoca mayor fluidez en los lípidos y fosfolípidos de la bicapa, en las bacterias, interfiere con los signos de transducción o de formación de toxinas.(Mora, 2003.p. 80)

Según el mismo autor algunos de los microorganismos inactivados o destruidos por estos lípidos son virus como herpes simple, hepatitis C, influenza, bacterias s como *Helicobacter pylori* y *Staphylococcus aureus*, levaduras como *Candida albicans*, y protozoos como *Giardia lamblia*. ( p.81)

### **Toxicidad**

Hasta el momento no se han dado reportes de toxicidad, los reportes que existen demuestran que solo provoca irritación en mucosas por lo que se debe suspender su uso si aparecen estos efectos, sin embargo, con respecto de la dosis media letal de ácido láurico puro corresponde a 12000 mg/kg en ratas.(Ficha de seguridad AppliChem, 2012)

### **Espectroscopía**

La espectroscopía es una técnica instrumental muy utilizada por los químicos para lograr determinar la composición cualitativa y cuantitativa de una muestra, principalmente mediante el uso de patrones o soluciones estándares o espectros conocidos de otras muestras, esta técnica de análisis se basa en la absorción de radiación por parte de las moléculas.(Arenas, López, 2004, pp1-4)

Existen muchos tipos de espectroscopia, sin embargo, las más utilizadas en química orgánica son:

- Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)
- Espectroscopía de infrarrojo
- Espectroscopía de ultravioleta
- Espectrometría de masas.

El espectro de absorción presenta una secuencia de frecuencias, en un intervalo relativamente ancho, correspondientes a los fotones absorbidos por una sustancia, generalmente representando el coeficiente de absorción en función de la frecuencia o longitud de onda, mientras que el espectro de emisión presenta una secuencia de

frecuencias, en un intervalo relativamente ancho, correspondientes a los fotones emitidos por una fuente, generalmente representando la potencia radiante emitida en función de la frecuencia o longitud de onda(Sancho, 2012, pp.1-2)

### **Espectrómetro**

Como menciona el mismo autor es un instrumento óptico que detecta las características de la luz absorbida, emitida o dispersada por una muestra atómica o molecular, se encuentra compuesto por diversas partes, entre ellas:

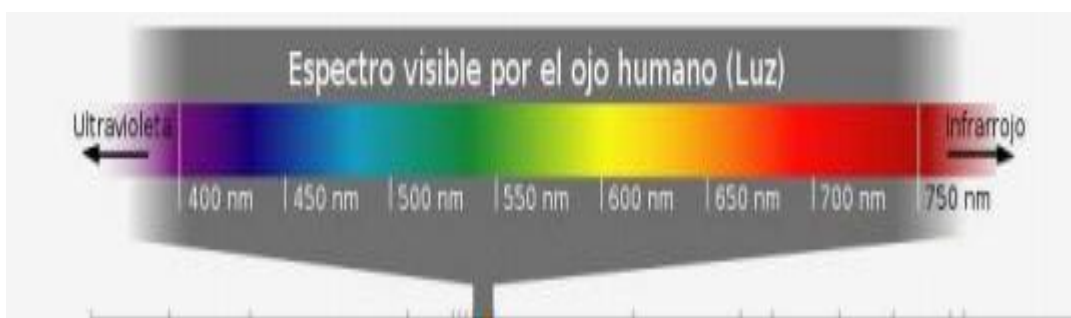
- Fuente o lámpara: estable, direccionable, de larga vida y con distribución de energía espectral continua.
- Monocromador: funciona para aislar las radiaciones de longitud de onda deseada
- Celda: contiene la muestra.
- Detector: responde al número de fotones y los convierte en señal para procesar y mostrar su valor.(p.4)

El espectro electromagnético es aquel rango de todas las longitudes de onda o frecuencias de radiación electromagnética posibles, que se divide en intervalos con denominaciones específicas y características más o menos comunes.Por orden de frecuencia creciente se obtienen:

- Ondas de radio: Sus frecuencias van desde unos pocos Hz hasta  $3 \times 10^9$  Hz. La energía de sus fotones es muy pequeña. Se producen y se utilizan en transmisiones de radio y TV.
- Microondas: El intervalo de frecuencias va desde  $3 \times 10^9$  hasta  $3 \times 10^{11}$  Hz, atraviesan la atmósfera, por lo que se utilizan en sistema de comunicación y astronomía.
- Infrarrojo: Esta región se extiende desde  $3 \times 10^{11}$  Hz hasta  $4 \times 10^{14}$  Hz, este tipo de radiación es la que emiten los objetos en forma de calor.
- Luz o espectro visible: Estrecha franja detectable por nuestra visión, va de  $3.8 \times 10^{14}$  Hz a  $7.7 \times 10^{14}$  Hz o de 780 a 390 nm.
- Rayos ultravioleta: van desde  $7.7 \times 10^{14}$  Hz hasta  $3 \times 10^{16}$  Hz lo cual representa entre 390 y 10 nm

- Rayos X: Esta región abarca la gama de frecuencias comprendida entre  $3 \times 10^{16}$  Hz y  $3 \times 10^{19}$  Hz, siendo altamente energéticos por lo que puedan provocar serios daños en organismos.
- Rayos  $\gamma$ : Son las ondas de mayor frecuencia, desde  $3 \times 10^{18}$  Hz hasta  $3 \times 10^{22}$  Hz, son emitidos por sustancias radiactivas.(pp.5-8)

Figura 14. Espectro visible por el ojo humano



Fuente: Sancho(2012)

### **Espectroscopía visible**

La espectroscopía visible es una de las técnicas más ampliamente y más frecuentemente empleadas en el análisis químico. Para que una sustancia sea activa en el visible debe ser colorida, el que una sustancia tenga color, es debido a que absorbe ciertas frecuencias o longitudes de onda del espectro visible y transmite otras más.

La base de la espectroscopía Visible y Ultravioleta consiste en medir la intensidad del color o de la radiación absorbida en UV a una longitud de onda específica comparándola con otras soluciones de concentración conocida llamadas soluciones estándar que contengan la misma especie absorbente. Para tener esta relación se emplea la Ley de Beer, que establece que para una misma especie absorbente en una celda de espesor constante, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración.(Tobalina, 2013)

## Espectroscopía infrarroja

La radiación infrarroja, radiación térmica o radiación IR es un tipo de radiación electromagnética de mayor longitud de onda que la luz visible, pero menor que la de las microondas. Consecuentemente, tiene menor frecuencia que la luz visible y mayor que las microondas. La espectroscopía infrarroja tiene su aplicación más inmediata en el análisis cualitativo: detección de las moléculas presentes en el material. (Torres, Nájera, 2009)

Los mismos autores mencionan a la espectroscopía infrarroja como una radiación que se clasifica por su energía. Dentro de las diferentes partes del infrarrojo es posible destacar:

- **Infrarrojo cercano:** puede ser utilizado en gafas de visión nocturna o telecomunicaciones de fibra óptica.
- **Infrarrojo medio:** puede ser utilizado por medio de visión térmica, termómetros de infrarrojo o misiles guiados por infrarrojo. En este rango de frecuencia se retribuye con energía necesaria para que los enlaces de las moléculas vibren.
- **Infrarrojo lejano:** esta zona de infrarrojo casi no tiene una utilidad para la detección.

## Interpretación del espectro

Ante un espectro de infrarrojo, reconocer diversos grupos funcionales debido a que según sea el grupo funcional todos presentan diferentes tipos de vibración característicos de la molécula que se está estudiando. Los mismos autores anteriormente mencionados realizan una clasificación donde el espectro de IR se divide en cuatro zonas distintas:

- Vibraciones entre  $500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ : en esta zona se encuentra la frecuencia de vibración y tensión entre los enlaces simples de dos átomos diferentes al hidrógeno.
- Vibraciones entre  $1600\text{-}1900\text{ cm}^{-1}$ : en esta zona tienen lugar las vibraciones de tensión que poseen los dobles enlaces.
- Vibraciones entre los  $1900\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ : aquí es posible encontrar las vibraciones de tensión con enlaces triples.
- Vibraciones entre los  $2500\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ : en este rango de vibración se obtienen las vibraciones de tensión de los enlaces con hidrógeno.

### CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

En este capítulo se va a realizar un análisis acerca del tipo de enfoque que presenta la investigación, además se definirá el diseño que presenta esta, también se determinarán cuáles son los objetos de estudio y qué se va a investigar de cada uno de ellos, se analizarán las variables y se establecerá la forma de cuantificarlas en los laboratorios en donde se llevará a cabo el proyecto, y por último se describirán paso a paso los procedimientos que se van a emplear para la obtención de los extractos y la formulación de la forma farmacéutica que se desee realizar.

#### **Enfoque**

Esta investigación se basa en un enfoque cuantitativo, en donde, según Hernández, Fernández y Baptista (2014) este tipo de enfoque es: “Un enfoque que utiliza la recolección de datos para probar hipótesis con base en la medición numérica y el análisis estadístico, con el fin establecer pautas de comportamiento y probar teorías.” .( pp. 4,5,6) ya que se van a recolectar datos sobre las propiedades farmacoterapéuticas especialmente de los efectos antimicóticos de los extractos de clavo de olor y coco, para probar la hipótesis que se planteó inicialmente acerca de su eficacia frente al hongo *Candida Albicans*.

#### **Diseño**

Este trabajo de investigación posee un diseño experimental, según Hernández, et al. (2014) un diseño de investigación es: “Un plan o estrategia concebida para obtener la

información que se desea con el fin de responder al planteamiento del problema” además, según el mismo autor un diseño experimental abarca variables, las cuales se puede medir, este tipo de diseño pretende establecer un posible efecto de cierta causa.(pp. 128-130)

Esta investigación pertenece al diseño experimental ya que se desea comprobar la eficacia antimicótica de dos extractos de plantas mediante métodos de extracción en el laboratorio, así como la creación de una forma farmacéutica a la cual se le realizarán pruebas de eficacia y calidad por medio de un estudio microbiológico.

### Variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Definición instrumental
Agente antifúngico	Sustancia que tiene la capacidad de evitar el crecimiento de algunos tipos de hongos o incluso de provocar su muerte.	Se determinará la capacidad antifúngica mediante análisis microbiológicos	Antibiograma por difusión en agar
Candida Albicans	Es un hongo dimórfico, pertenece al filo Ascomycota, es considerado un hongo patógeno oportunista en mamíferos	Se determina el hongo en las placas de agar presentes en el laboratorio Microlabs	Placas de Agar colonizadas con el hongo
Aceites esenciales	Sustancias volátiles que se obtienen de las plantas como metabolitos secundarios, se encuentran compuestos de diversas moléculas	Se realizará su extracción en el laboratorio mediante los procesos de destilación por arrastre de vapor y por extracción con el método Soxhlet	Equipo de destilación por arrastre de vapor y equipo Soxhlet
Aceite esencial de clavo de olor	Líquido color amarillo-marrón con aroma característico y soluble en etanol, es un aceite esencial fotosensible, obtenido de los botones florales de	Su extracción se va a realizar por medio de la destilación por arrastre de vapor	Equipo de destilación por arrastre de vapor

	la planta de clavo de olor		
Eugenol	Principal componente del aceite esencial del clavo de olor, es un derivado fenólico, su nombre químico es 2 metoxi-4-(2propenil) fenol, representa aproximadamente el 75-88% del aceite del clavo de olor	Se extracción se realizará a partir del aceite esencial del clavo de olor utilizando diversos reactivos del laboratorio	Reactivos y materiales del laboratorio
Aceite esencial de coco	Líquido de color amarillo, sin embargo, en ambiente toma un color más oscuro, se encuentra conformado aproximadamente por un 86 a 91 % de ácidos grasos saturados, entre ellos los más comunes y abundantes son el ácido láurico, caprílico y palmítico	Se extraerá por medio del método de extracción Soxhlet	Equipo Soxhlet
Ácido Láurico	Es un ácido graso saturado de cadena media, se encuentra en los aceites láuricos hasta en un 50% y en la grasa láctea, su nombre sistemático es ácido dodecanoico, su fórmula química es $C_{12}H_{24}O_2$	Se extraerá el ácido láurico a partir del aceite esencial de coco	Reactivos y equipos del laboratorio
Concentración mínima efectiva	Es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un	Se realizará en placas incubadas con el hongo <i>Candida Albicans</i> , colocando diversas	Placas de agar incubadas con <i>Candida Albicans</i>

	microorganismo después de su incubación. L	concentraciones de la forma farmacéutica y aceites	
--	--	--	--

### **Instrumentos**

Para la extracción de los aceites esenciales y la formulación de la forma farmacéutica se utilizan materiales y reactivos encontrados en los laboratorios de química de la Universidad Internacional de las Américas, las muestras de clavo de olor y coco fueron validadas por el herbario nacional del Museo Nacional de Costa Rica, además para realizar las pruebas microbiológicas se utilizan los materiales y reactivos del laboratorio Microlabs.

### **Método de destilación, extracción y aislamiento del aceite esencial de clavo de olor por medio de arrastre de vapor**

#### **Equipo y reactivos**

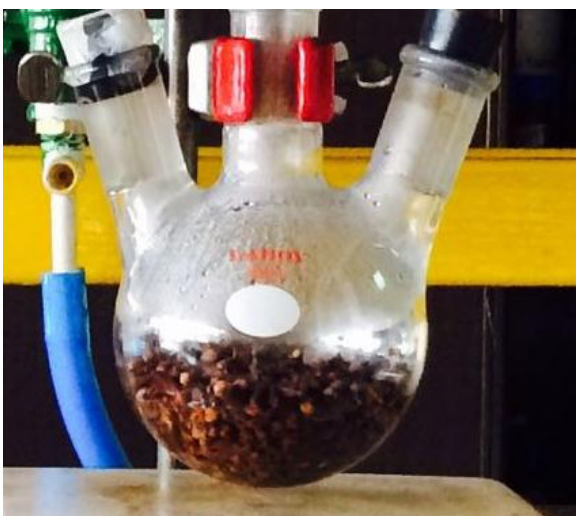
- Balón de tres bocas de 500mL
- Termómetro
- Condensador de destilación
- Balón de 500mL
- Calentador agitador
- Mangueras
- Balanza
- Papel encerado
- Espátula metálica
- Pizeta
- Erlenmeyer de 250mL
- Soportes
- Prensas universales
- Embudo separador de 500mL
- Beakers de 100, 200 y 500mL
- Probeta de 50mL
- Embudo espiga

- Papel filtro
- Espátula
- Papel filtro
- Papel parafilm
- 100 gramos de clavo de olor
- Agua destilada
- Destilado del clavo de olor
- Diclorometano
- Sulfato de sodio anhidro
- Cloruro de sodio

### Método

Para la destilación por medio de arrastre de vapor del aceite del clavo de olor, primero se pesó en la balanza 100 gramos de clavo de olor sobre el papel encerado y se traspasó el clavo de olor al balón de 500 mL de tres bocas limpio y seco. A dicho balón se le agregaron aproximadamente 20mL de agua destilada tal y como se muestra en la siguiente figura.

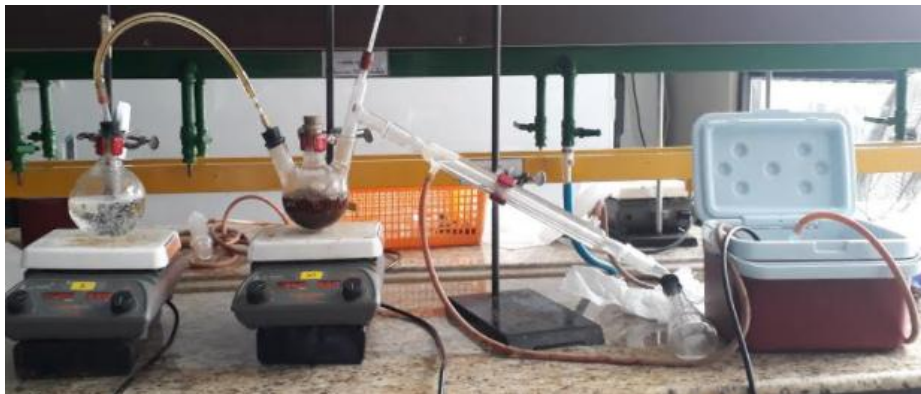
Figura 15. Balón con 100 gramos de clavo de olor y 20mL de agua destilada



Fuente: Autor

Posterior a esto se procedió a colocar el equipo de destilación por medio de arrastre de vapor, el proceso de destilación se llevó a cabo durante aproximadamente tres horas

continuas, al balón que contiene los clavos se le aplica calor levemente, mientras que al



balón de 500 mL que contiene solo agua destilada, se le aplica calor hasta punto de ebullición como se muestra en la figura 15. Al

cabo de unos cuantos minutos se comienza a observar unas gotas turbias en el Erlenmeyer de 250 mL, éstas corresponden a las primeras gotas del destilado, conforme pasa el tiempo esta turbidez va desapareciendo, siendo ahí donde se detiene el proceso de destilación.

Figura 16 Equipo de destilación por arrastre de vapor

Fuente: Autor

Luego de obtener el destilado se saturó con cloruro de sodio y se transfiere al embudo separador y se le realizaron cuatro extracciones, cada una de ellas con 25mL de diclorometano, se recolecta la fase orgánica en un beaker de 200 ml.

Una vez realizadas las cuatro extracciones con el diclorometano, se le realizó el secado a la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y cuando ya se encontraba seco se filtró por gravedad.

Figura 17. Extracción en embudo separador del aceite con Diclorometano

Fuente: Autor



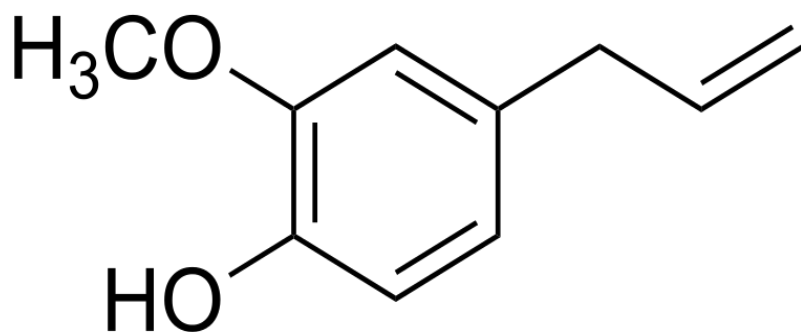
Figura 18. Secado de la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro



Fuente: Autor

Por último, la solución que se obtuvo al filtrar se debe concentrar para obtener el aceite puro, por lo cual se debe evaporar el solvente obtenido en la solución, para esto se utilizó un filtrado al vacío como se muestra en la figura 19, obteniendo al final del proceso un líquido.

Figura 19. Evaporación del solvente



Fuente: Autor



### **Pruebas de identificación de los componentes del aceite esencial de clavo de olor**

#### **Prueba de identificación de fenoles con Cloruro de Hierro (III)**

Uno de los principales componentes del aceite esencial de clavo de olor es el eugenol, en su estructura posee diversos grupos funcionales, entre ellos como se muestra en la figura 20, se encuentra un fenol.

Figura 20. Estructura del eugenol

Fuente: USP38(2010-2015)

### **Equipo y reactivos para la prueba de identificación de fenoles con Cloruro de Hierro (III)**

- Tubos de ensayo
- Gotero
- Etanol al 95%
- Aceite esencial de clavo de olor
- Solución de Cloruro de Hierro al 3%

### **Método para la identificación de fenoles con Cloruro de Hierro (III)**

Para realizar la prueba, se agregan dos gotas del aceite esencial de clavo de olor, posteriormente se le agrega 1 mL de etanol para disolver el aceite, la solución de Cloruro de Hierro (III) al 3% la cual se preparó en el laboratorio pesando 3 gramos de Cloruro de Hierro (III) y se colocaron en un balón de 100mL, posteriormente, se procedió a colocar 3 gotas de dicha solución, la prueba es positiva al observar una coloración entre verde-azul y violeta.

### **Prueba de Baeyer para la identificación de alquenos**

El eugenol en su estructura contiene un alqueno terminal, la prueba de baeyer consiste en utilizar una solución de permanganato de potasio al 2% pesando 2 gramos y disolviéndolos en 100mL, la prueba es positiva si se observa un cambio de coloración a café oscuro.

### **Equipo y reactivos para la prueba de Baeyer para identificación de alquenos**

- Tubos de ensayo
- Gotero
- Aceite esencial de clavo de olor
- Solución de permanganato de potasio al 2%
- Etanol al 95%

### **Método para la prueba de Baeyer**

Primero se deben colocar dos gotas del aceite esencial del clavo de olor, posteriormente se debe disolver el aceite en 1 mL de etanol, y se le agregan 3 gotas de la solución del permanganato de potasio, la prueba da positiva si la solución cambia a un color café oscuro intenso.

### **Evaluación cuantitativa del aceite esencial de clavo de olor por espectroscopía UV-Vis**

Esta evaluación es útil debido a que con su realización se puede estimar una cantidad en gramos del compuesto por mililitros para lograr formular la crema con una concentración adecuada.

### **Equipo y reactivos**

- Espectrofotómetro UV-Vis
- Patrón de eugenol
- Aceite esencial de clavo de olor
- Balones de 50mL
- Balones de 10 mL
- Pipeta graduada de 1 mL
- Pipeta de 1mL
- Pipeta de 2mL
- Pipeta de 3mL
- Pipeta de 4mL
- Pipeta de 5mL
- Diclorometano
- Gotero
- Agua destilada

### **Método para la preparación de la solución estándar y patrones de referencia**

Para la preparación de la solución estándar se pesó en una balanza analítica 50 mg del patrón de eugenol con una potencia de 82,6% presente en la Universidad Internacional de las Américas y se colocó en un balón de 50mL y se aforó con diclorometano, luego se tomó una alícuota de esa solución y se traspasó a otro balón de 50mL y se aforó, esta última corresponde a la solución madre.

De la solución madre se realizaron cinco diluciones, la primera fue tomando 1mL de la solución madre y pasándolo a un balón de 50mL y así sucesivamente con las pipetas de 2mL, 3mL, 4mL y 5mL para obtener 5 soluciones y realizar la curva de calibración midiendo sus absorbancias en el espectrofotómetro UV-Vis.

Figura 21. Patrones de referencia



Fuente: Autor

### **Método para la preparación de las muestras para la determinación de eugenol en el aceite esencial de clavo de olor**

Las muestras se prepararon tomando 1mL del aceite esencial de clavo de olor disolviéndolo y aforándolo en un balón de 10mL con diclorometano, antes de aforar se colocó en el ultrasónico por aproximadamente 10 minutos. Posteriormente de ese balón se tomó una alícuota de 1mL y se traspasó a un balón de 50mL aforando con diclorometano, esto se realizó por triplicado, obteniendo de esa manera las muestras para leer sus absorbancias en el espectrofotómetro

Figura 22. Muestra en ultrasónico



Fuente: Autor

### **Determinación de las absorbancias de las referencias y las muestras de clavo de olor**

Con respecto de la longitud de onda, se utilizó la descrita en la USP 38 NF 33(2010-2015), la cual corresponde a 282nm.

Las primeras mediciones realizadas fueron las de referencia, para ello se utilizó un “blanco” el cual consistió en diclorometano, posterior a ello se colocaron en una celda cada patrón de referencia y se determinó su absorbancia.

Posteriormente se realizó la determinación de las absorbancias de las muestras, realizándose el mismo procedimiento descrito anteriormente.

### **Prueba de identificación del eugenol presente en el aceite esencial de clavo de olor mediante espectroscopia infrarroja**

Esta es otra prueba de gran utilidad para identificar los compuestos presentes en diversas sustancias, en este caso, se realizó la prueba con el patrón de eugenol con un porcentaje de pureza de 82,67% y una muestra del aceite esencial recolectado, ambos se colocaron en el equipo infrarrojo de la Universidad Internacional de las Américas para obtener ambos espectros y poder comparar las señales detectadas de los grupos funcionales de la molécula.

## Método de destilación y extracción del aceite esencial de coco por medio de destilación Soxhlet

### Equipo y reactivos



- Equipo Soxhlet
- Prensas
- Erlenmeyer de 250mL
- Balón de 500mL
- Calentador agitador
- Balanza
- Papel encerado
- Espátula metálica
- Pizeta
- Soportes
- Agua destilada
- 250 mL de etanol
- 150 gramos de coco fresco

### Método

Para la destilación por el método Soxhlet se necesitó de un coco mediano, el cual se cortó en pequeños trozos, se pesaron aproximadamente 150 gramos del coco, y se traspasaron a la cámara del equipo, se armó el equipo completo en donde al balón de 500 mL se le añadieron 250 mL de etanol el cual fue el solvente utilizado, se colocaron las mangueras, se le aplicó calor, según las propiedades y características del solvente utilizado y se comenzó la destilación como se muestra en la figura 23.

Figura 23. Destilación Soxhlet



Fuente: Autor

El proceso en esta destilación es cíclica, se esperó a que se dieran al menos 3 ciclos para obtener una mayor concentración de aceite y de lípidos en el destilado, para la obtención de 3 ciclos se tomó un tiempo aproximado de tres horas.

Por último, el líquido que se obtiene en el balón de 500mL contenía el extracto del coco más el solvente, en este caso etanol, por lo cual se procedió a evaporar el solvente para dejar solamente el aceite de coco.

### **Pruebas de identificación de los componentes del aceite esencial de coco**

#### **Prueba para identificación de ácidos carboxílicos presentes en la estructura del ácido láurico**

Uno de los principales componentes del aceite esencial de coco es el ácido láurico, tal y como se muestra en la siguiente figura, la cual consta de un ácido carboxílico y una cadena de doce carbonos.

Figura 24. Ácido carboxílico presente en el ácido láurico

Fuente: Derouiche(2015)

### **Equipo y reactivos para la prueba de identificación de yoduro-yodato para ácidos carboxílicos**

- Tubos de ensayo
- Gotero
- Yoduro de potasio
- Yodato de potasio
- Aceite esencial de coco
- Calentador
- Almidón

### **Método para la identificación de ácidos carboxílicos con la prueba de yoduro-yodato**

Para realizar la prueba, se agregan dos gotas del aceite esencial de coco, posteriormente se le agrega dos gotas de yoduro de potasio y dos de yodato de potasio posteriormente, calienta en baño maría dicha solución durante un minuto, y por último se enfría y se le agrega dos gotas de almidón. La prueba es positiva si toma una coloración azul intensa.

### **Evaluación cuantitativa del aceite esencial de coco por espectroscopia UV-Vis**

Esta evaluación es útil debido a que con su realización se puede estimar una cantidad en gramos del compuesto por mililitros para lograr formular la crema con una concentración adecuada.

### **Equipo y reactivos**

- Espectrofotómetro UV-Vis
- Patrón de ácido láurico
- Aceite esencial de coco
- Balones de 50mL
- Balones de 10 mL
- Pipeta graduada de 1 mL
- Pipeta de 1mL
- Pipeta de 2mL
- Pipeta de 3mL

- Pipeta de 4mL



- Pipeta de 5mL
- Etanol
- Gotero
- Agua destilada

### **Método para la preparación de la solución estándar y patrones de referencia**

Para la preparación de la solución estándar, se obtuvo el patrón gracias al Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica, el patrón fue adquirido en estado líquido con una potencia de 99,0%, por lo cual con su densidad se calculó la cantidad que se requería para poder realizar la curva de calibración, en donde se tomaron 0,1mL lo cual según su densidad equivale 88mg los cuales se colocaron en un balón de 50mL y se aforó con etanol, luego se tomó una alícuota de 2mL de esa solución y se traspasó a otro balón de 50mL y se aforó, esta última corresponde a la solución madre.

De la solución madre se realizaron cinco diluciones, la primera fue tomando 1mL de la solución madre y pasándolo a un balón de 50mL y así sucesivamente con las pipetas de 2mL, 3mL, 4mL y 5mL para obtener 5 soluciones y realizar la curva de calibración midiendo su absorbancias en el espectrofotómetro UV-Vis.

Figura 25. Patrón de ácido láurico

Fuente: Autor

Figura 26 Patrones de referencia para la curva de calibración



Fuente: Autor

### **Método para la preparación de las muestras para la determinación de ácido láurico en el aceite esencial de coco**

Las muestras se prepararon tomando 1mL del aceite esencial de coco disolviéndolo y aforándolo en un balón de 10mL con etanol, antes

de aforar se colocó en el ultrasónico por aproximadamente 15 minutos. Posteriormente de ese balón se tomó una alícuota de 2mL y se traspasó a un balón de 50mL aforando con etanol, esto se realizó por triplicado, obteniendo de esa manera las muestras para leer sus absorbancias en el espectrofotómetro

Figura 27. Muestras



Fuente: Autor

### **Determinación de las absorbancias de las referencias y las muestras de coco**

Con respecto de la longitud de onda, se utilizó la descrita en la USP 38 NF 33(2010-2015), la cual corresponde a 212nm.

Las primeras mediciones realizadas fueron las de referencia, para ello se utilizó un “blanco” el cual consistió en etanol, posterior a ello se colocaron en una celda cada patrón de referencia y se determinó su absorbancia.

Posteriormente, se realizó la determinación de las absorbancias de las muestras, realizándose el mismo procedimiento descrito anteriormente.

### **Identificación del ácido láurico presente en el aceite esencial de coco por medio de espectroscopía infrarroja**

En este caso, se realizó la prueba con el patrón de ácido láurico con un porcentaje de pureza de 99,0% y una muestra del aceite esencial de coco recolectado, ambos se colocaron en el equipo infrarrojo de la Universidad Internacional de las Américas para obtener ambos espectros y poder comparar las señales detectadas de los grupos funcionales de la molécula

### **Formulación de la crema a partir de los aceites esenciales de coco y clavo de olor**

#### **Equipo y reactivos**

- Beakers de 200mL
- Espátula
- Balanza

- Calentador-agitador
- Gotero
- Pastilla de agitación
- Termómetro
- Agitador de vidrio
- Alcohol esteárico
- Alcohol cetílico
- Glicerina
- Metilparabeno
- Propilparabeno
- Aceite mineral
- Trietanolamina
- Agua destilada
- Aceite esencial de coco
- Aceite esencial de clavo de olor

### **Método para la formulación**

Para realizar la crema, se tomó la decisión de obtener 100 gramos de crema, para ello se pesaron todos los componentes de la formulación y de los aceites esenciales, la crema se realizó al 2% debido a que antes de formular la crema se realizaron diluciones de los aceites esenciales y se probaron microbiológicamente, obteniendo que la dilución al 2% fue la más efectiva por lo que se decidió realizar la crema a esta concentración.

Para realizar la crema, primero se fundieron el ácido esteárico y el alcohol cetílico a una temperatura de 70°C en un beaker, posterior a ello se adicionó el aceite mineral y simultáneamente se disolvió el propilparabeno y se calentó hasta una temperatura de 75°C, en esta parte se agregaron las cantidades de los aceites esenciales para que se dé una mezcla homogénea, ya que esta fase es la porción oleosa de la crema como se muestra en la siguiente figura y se mezcló por aproximadamente 30 minutos.

Figura 28.Fase oleosa



Fuente: Autor

En otro beaker se calentó el agua destilada, la glicerina y la trietanolamina a  $80^{\circ}\text{C}$  y en ella se disolvió el metilparabeno manteniendo la temperatura a  $80^{\circ}\text{C}$ . y se mezcló por 30 minutos, ésta corresponde a la fase acuosa. Finalizados los 30 minutos se añadió la fase oleosa a la fase acuosa con agitación constante por aproximadamente 30 minutos, para formar el núcleo de la emulsión.

Figura 29.Fase acuosa



Fuente: Autor

Figura 30.Mezcla de fases



Fuente: Autor

Una vez pasados los 30 minutos la crema esta lista, por lo que se disminuye la temperatura y se envasa, si se desea se le puede agregar en este punto color o algún aroma.

Figura 31. Crema envasada



Fuente: Autor

Tabla 5. Componentes de la crema elaborada

<b>Componente</b>	<b>Cantidad pesada(gramos)</b>
Alcohol cetílico	2g
Ácido esteárico	7g
Glicerina	5g
Metilparabeno	0,15g
Propilparabeno	0,05g
Aceite mineral	5g
Trietanolamina	2g
Mezcla de aceites esenciales	20g
Agua destilada csp	100g → 58,8g

Fuente: Autor

### **Método para el análisis microbiológico de los aceites esenciales y de la crema formulada**

Los estudios microbiológicos fueron realizados en el laboratorio Microlabs, ubicado en el centro de Guadalupe en donde todos los métodos utilizados son normalizados y verificados por Organismos Nacionales e Internacionales con controles cruzados acreditados y validados por ISO (AOAC y FDA).

#### **Preparación de las diluciones de los aceites esenciales**

Las diluciones de los aceites esenciales se llevaron a cabo en aceite mineral y se realizaron con ayuda de los datos obtenidos de las curvas de calibración, los cálculos se adjuntan en la sección de anexos, se prepararon diluciones al 0,1%, 0,5%, 1% y 2% y mediante reglas de tres se sacaron los equivalentes a los gramos por mililitros obtenidos de las curvas de calibración y se efectuaron las diluciones.

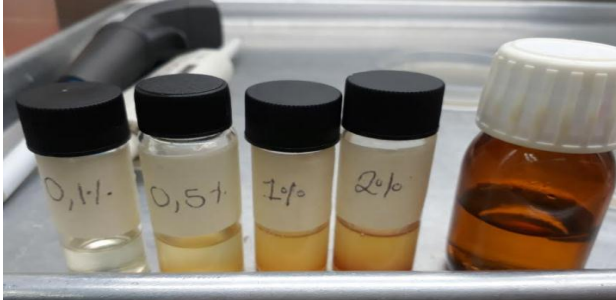
#### **Preparación de las placas**

La técnica se puede realizar con discos impregnados de la sustancia a evaluar o mediante pequeñas incisiones, en este caso, se llevó a cabo con incisiones por recomendación del microbiólogo a cargo del laboratorio en las cuales se depositó la muestra, se utilizaron placas de agar Müller-Hinton.

Una vez obtenidas las perforaciones del agar se procedió a “rayar” con la cepa de *Candida Albicans* facilitada por el laboratorio con ayuda de un hisopo, se realizó un rayado en cuatro direcciones y por último, se depositó con una micropipeta una pequeña cantidad de las diluciones, se esperaron 24 horas para observar resultados y medir los halos de inhibición.

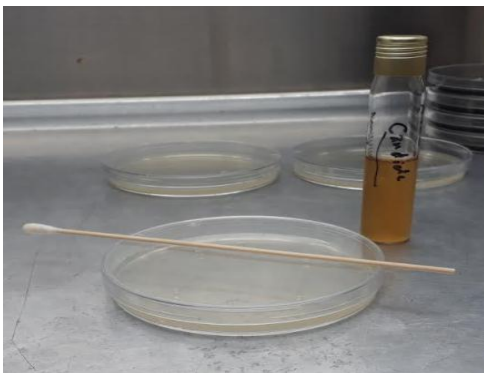
El mismo procedimiento se realizó en la segunda visita con la crema y un control positivo el cual corresponde a una crema al 1% de clotrimazol.

Figura 32. Diluciones



Fuente: Autor

Figura 33. Placas de Agar



Fuente: Autor

## CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

### **Extracción del aceite esencial de clavo de olor por medio del método de arrastre de vapor**

El método de destilación por arrastre de vapor, según Stashenko (2014) es un procedimiento muy efectivo, tiene la ventaja de que el material vegetal, en este caso los clavos de olor, no reciben directamente el calor de manera intensa, por lo cual esto evita que se causen daños en el material, tales como oxidación, sin embargo, tiene la desventaja de que es un proceso muy largo, ya que se tardan aproximadamente unas 3 a 4 horas en obtener una cantidad favorable del destilado.

Además, según menciona el mismo autor, se han realizado comparaciones entre diversos métodos llegando a la conclusión de que el arrastre por vapor es el que presenta el mayor rendimiento a la hora de extraer este tipo de compuestos.

El destilado que se obtuvo fue un líquido lechoso, color blanquecino, como se muestra en la figura 33, en esta etapa el aceite de clavo se encontraba disperso en el agua. De aproximadamente 100 gramos de clavos de olor se obtuvieron 250 mL de destilado.

Figura 34. Destilado del clavo de olor



Fuente: Autor

Al terminar la destilación se saturó la solución con cloruro de sodio, esto debido a que la saturación con este compuesto genera una separación de fases entre el agua y el aceite, y posteriormente, se le realizaron 4 extracciones con diclorometano, esto porque el aceite es soluble en diclorometano y el agua no, por lo tanto, a la hora de colocarlos en el embudo separador, el aceite se va a separar del agua ya que se solubiliza en diclorometano, por lo cual queda el aceite en la fase más densa que es la fase orgánica, la que posteriormente, se evaporó quedando como residuo solamente el extracto puro, obteniéndose aproximadamente 4 mL de aceite esencial, éste cumplió con las características descritas por Aguilar y López (2013) las cuales se describen en la tabla 6.

Figura 35. Separación de fases en embudo separador



Fuente: Elaboración propia

Figura 36. Aceite esencial obtenido



Fuente: Autor

Tabla 6. Características del aceite de clavo de olor obtenido

<b>Parámetro a evaluar</b>	<b>Resultado</b>
<b>Color</b>	Amarillo claro
<b>Olor</b>	Olor dulce, muy fuerte
<b>Textura</b>	Oleosa

Fuente: Autor

### **Identificación de los componentes del aceite esencial del clavo de olor**

Uno de los principales componentes del aceite esencial es el eugenol, éste se encuentra en mayor proporción al cual se le atribuyen los principales efectos terapéuticos., este compuesto contiene en su estructura diversos constituyentes, entre ellos un fenol y un alqueno, por lo cual se realizaron las siguientes pruebas.

### **Prueba para identificación de fenoles con Cloruro Férrico (III)**

Esta prueba consiste en utilizar cloruro de hierro (III) obteniendo un complejo y una coloración variada entre verde-azul-violeta. Según Jozsef (2015) esta respuesta se debe al ataque producido por el ion cloruro al hidrógeno del grupo hidroxilo provocando una ruptura de enlace y la unión del grupo fenoxido al hierro dando la formación de un complejo coloreado, la base de la prueba consiste en que los fenoles forman un complejo con el  $Fe^{3+}$ .

La prueba se realizó disolviendo dos gotas del aceite esencial en etanol y se le añadió el cloruro férrico (III) cambiando de un color transparente a un color verdoso azulado indicando la presencia de fenoles en la muestra por lo cual la prueba fue positiva como se muestra en la siguiente figura.

Figura 37. Prueba de cloruro férrico (III) positiva



Fuente: Autor

### Prueba de Baeyer para identificación de alquenos

El eugenol en su estructura contiene un alqueno terminal, por lo que se le realizó esta prueba, utilizando una solución de permanganato de potasio al 2%, en este caso, en presencia de dobles enlaces hace que el color púrpura del permanganato desaparezca, pasando a una tonalidad café oscuro muy intenso, esto ocurre debido a que el permanganato oxida las dobles enlaces y el permanganato de potasio se reduce a dióxido de manganeso. (Hober, 2011)

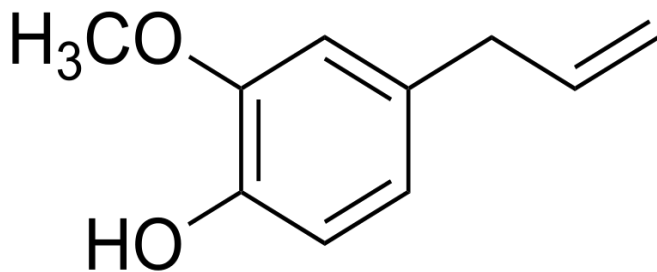


Figura 38. Molécula del eugenol

Fuente: USP38(2010-2015)

Según el mismo autor el reactivo de Baeyer es una solución alcalina de permanganato de potasio, el cual es un potente oxidante, en este caso la prueba dio positiva ya que se observa el cambio de coloración a un café oscuro.



Figura 39. Prueba de Baeyer positiva

Fuente: Autor

### **Determinación cuantitativa del eugenol presente en el aceite esencial de clavo de olor por medio de espectrofotometría UV-Vis**

El análisis cuantitativo se realizó por medio de una curva de calibración, en donde se prepararon soluciones patrones y muestras para poder determinar o cuantificar la cantidad de eugenol que se encuentra presente en el aceite obtenido, al pesar 50mg de patrón se obtuvo una concentración de la solución madre de 0,0329g/mL, a partir de ella se realizaron 5 diluciones y se efectuó una curva de calibración con las concentraciones y absorbancias de las diluciones del patrón mostradas en la siguiente tabla.

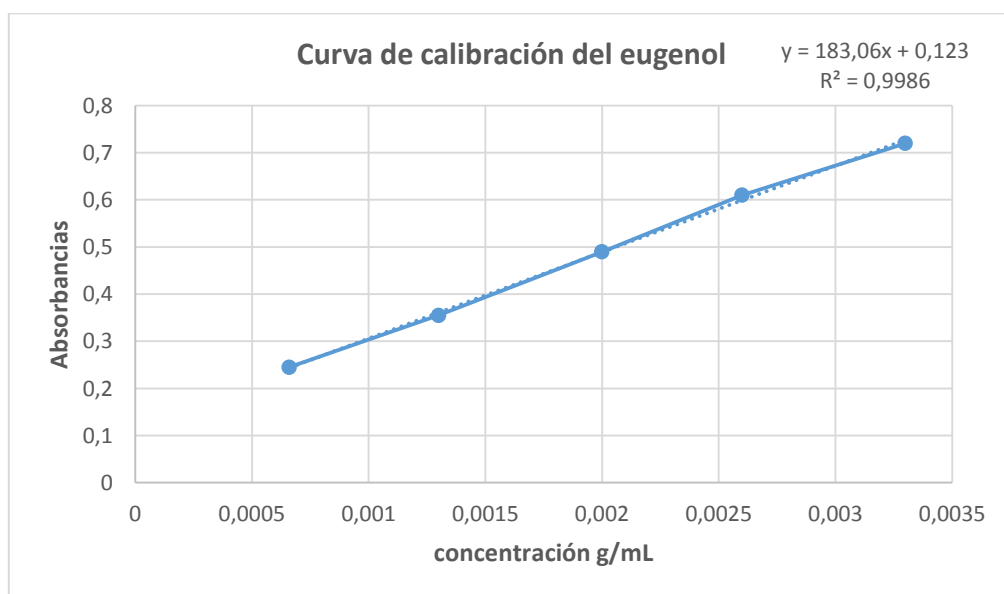
Tabla 7. Concentraciones de los patrones de referencia y sus respectivas absorbancias

Concentración	Absorbancia
$6,6 \times 10^{-4}$ g/mL	0,245
$1,3 \times 10^{-3}$ g/mL	0,355
$2,0 \times 10^{-3}$ g/mL	0,490
$2,6 \times 10^{-3}$ g/mL	0,610
$3,3 \times 10^{-3}$ g/mL	0,720

Fuente: Autor

Con los resultados obtenidos de la tabla anterior, se procedió a realizar la curva de calibración, la cual se muestra en la siguiente figura.

Figura 40. Curva de calibración del eugenol



Fuente: Autor

Como se puede apreciar en la figura anterior se obtuvo una ecuación de la recta con un  $R^2$  de 0.9986 lo que quiere decir que los resultados son confiables ya que indica una alta linealidad de los datos, esto brinda confianza en análisis cuantitativos de este tipo. Posterior a la realización de la curva de calibración se procedió a analizar las muestras, las cuales se describen en la siguiente tabla.

Tabla 8. Concentraciones y absorbancias de las muestras

Muestra	Absorbancia
1	0,478
2	0,476
3	0,477

Fuente: Autor

Una vez analizadas las muestras y leídas las absorbancias se puede proceder a calcular las concentraciones de cada muestra, para posteriormente, con ayuda de la curva de calibración calcular los gramos/mililitro obtenidos de eugenol en el aceite esencial y con esto poder realizar la formulación de la crema y las pruebas microbiológicas, como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 9. Concentraciones de las muestras y sus respectivos g/mL de eugenol

Muestra	Concentración	g/mL de aceite
1	0,001939g/mL	0,9695g/mL
2	0,001928g/mL	0,964g/mL
3	0,001933g/mL	0,9665g/mL
		Promedio: 0,9667g/mL

Fuente: Autor

De la tabla anterior se puede interpretar que por cada mililitro del aceite esencial de clavo de olor obtenido se tienen 0,9667 gramos.

### **Prueba de identificación del eugenol por medio de espectroscopia infrarroja**

Según Murillo y Gómez (s.f) los análisis infrarrojos son de gran utilidad a la hora de identificar compuestos, en este caso se realizó un análisis de las señales obtenidas en el

espectro IR de ambas sustancias, en donde las señales detectadas se analizaron con ayuda del libro “Principios del análisis instrumental” (2001).

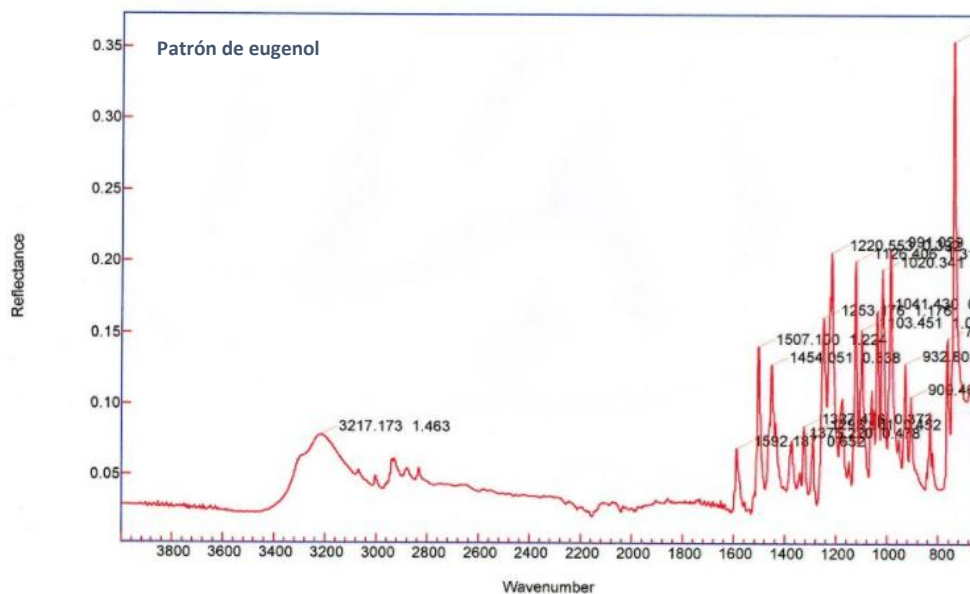
Tanto en el patrón como en el aceite esencial, tal y como se observa en las figuras 39 y 40 existe una gran similitud entre ambos espectros, en ambos casos se muestra la primera señal, a los  $3217\text{cm}^{-1}$  en el patrón y a los  $3219\text{cm}^{-1}$  el aceite esencial los cuales indican la presencia del grupo funcional OH característico de la estructura del fenol presente en el eugenol, además aproximadamente a los  $3072\text{ cm}^{-1}$  aparece una señal de estiramiento de los enlaces  $\text{sp}^2$  entre un hidrógeno y un carbono la cual es característica del anillo aromático presente en el eugenol.

Otra señal con intensidad moderada es la que aparece a los  $1507\text{ cm}^{-1}$  ésta corresponde a los enlaces carbono-carbono aromático, además a los  $1253\text{ cm}^{-1}$  aparece una señal característica de estiramiento del enlace carbono-oxígeno presente en el grupo fenólico del eugenol.

Se registró otra señal a los  $1124\text{ cm}^{-1}$  en el aceite esencial y a los  $1126\text{ cm}^{-1}$  en el patrón las cuales corresponden, según los valores teóricos al movimiento vibracional del enlace carbono-oxígeno del grupo metoxi presente en la molécula del eugenol. A los  $909\text{ cm}^{-1}$  en el aceite esencial y a los  $932\text{ cm}^{-1}$  en el patrón se observa una señal moderada la cual se considera característica del compuesto aromático 1,2,4 trisustituido encontrado en el eugenol, finalmente a los  $745\text{ cm}^{-1}$  en el aceite esencial y a los  $750\text{ cm}^{-1}$  en el patrón se logra observar una señal vibracional para el alqueno presente en el eugenol.

Figura 41. Espectro infrarrojo del patrón de eugenol

Agilent Resolutions Pro



Fuente: Autor

Figura 42. Espectro infrarrojo del aceite esencial

Agilent Resolutions Pro



Fuente: Autor

### Extracción del aceite de coco por medio de destilación Soxhlet

El método de extracción por Soxhlet consiste en una extracción líquida-sólida, ha sido utilizado desde hace muchos años, es un método muy sencillo que permite una

extracción muy efectiva, dentro de sus ventajas se encuentra que la muestra está en continuo contacto con el disolvente, además que es muy sencilla de realizar, y proporciona cantidades considerables del extracto, además otra de sus ventajas es que no es necesario filtrar lo obtenido, solamente se evapora el solvente orgánico y deja como resultado el aceite esencial que se requiere extraer.( Núñez, 2008)

Dentro de sus desventajas el mismo autor menciona que se encuentra principalmente el tiempo que dura la extracción, ya que incluso puede tomarse más de 4 horas, además se puede dar la descomposición de las muestras termolábiles ya que el disolvente orgánico se encuentra cerca de la temperatura de ebullición.

Para esta investigación, se realizó la extracción del coco por este método, ya que Figueroa (2013) realizó un procedimiento experimental donde menciona que este método es el que produce un mayor porcentaje de rendimiento del aceite de coco comparado con otros procesos de extracción, entre ellos la maceración.



En este caso se utilizó coco cortado en trozos medianos, esto para evitar obstruir el equipo y como disolvente se utilizó etanol debido a que Figueroa (2013) menciona que cuando la extracción del aceite de coco se realiza en un medio etanólico se logra extraer con mayor facilidad sus componentes por lo cual se le podría atribuir un mayor efecto antifúngico. Al cabo de 4 horas se observó un color blanco en el balón que contenía el disolvente, señal que ya se había extraído el aceite de coco, se evaporó el disolvente y conforme se fue evaporando fue observándose un cambio en la coloración del residuo a un café claro primero y posteriormente, un café oscuro como se muestra en la figura 42, éste era el color esperado ya que Granados y López(2002) mencionan que el aceite de coco es color amarillo o café claro cuando se encuentra fresco, sin embargo se acidifica rápidamente y toma un color café oscuro. De aproximadamente un coco pequeño lo cual equivale a 150-160 gramos, de esto se obtuvo 5mL de aceite.

Figura 43. Aceite de coco obtenido por extracción Soxhlet

Fuente: Autor

Tabla 10. Características del aceite de coco obtenido

Parámetro a evaluar	Resultado
Color	Café oscuro
Olor	Dulce, muy agradable
Textura	Oleoso y viscoso

Fuente: Autor

### Pruebas de identificación de los componentes del aceite esencial del coco

#### Prueba para identificación de ácidos carboxílicos con yoduro-yodato

Esta prueba consiste en utilizar yoduro y yodato de potasio en un medio caliente en donde al entrar en contacto con el ácido carboxílico se produce una liberación de yodo lo cual se refleja en la coloración naranja-marrón que toma producto de la siguiente reacción:

Figura 44. Reacción de la prueba yoduro-yodato para ácidos carboxílicos.



Fuente: Baron(2012)

Este yodo libre al reaccionar con el almidón es donde toma la coloración azul intensa que se muestra en la imagen 45, lo cual indica que la prueba fue positiva.

Figura 45. Prueba de yoduro-yodato positiva



Fuente: Autor

**Determinación  
cuantitativa del  
ácido láurico  
presente en el aceite  
esencial de coco por  
medio de  
espectrofotometría  
UV-Vis**

El análisis  
cuantitativo se realizó

por medio de una curva de calibración al igual que con el clavo de olor, en donde se prepararon soluciones patrones y muestras para poder determinar o cuantificar la cantidad de ácido láurico que se encuentra presente en el aceite obtenido, al agregar 0,088g de patrón se obtuvo una concentración de la solución madre de 0,0697g/mL, a partir de ella se realizaron 5 diluciones y se realizó una curva de calibración con las concentraciones y absorbancias de las diluciones del patrón mostradas en la siguiente tabla.

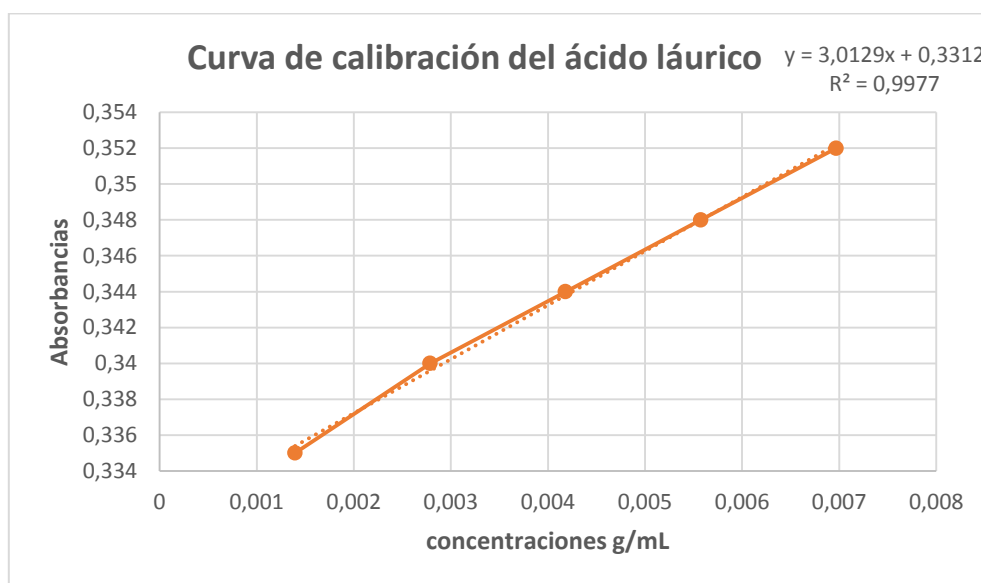
Tabla 11. Concentraciones de los patrones de referencia y sus respectivas absorbancias

Concentración	Absorbancia
$1,394 \times 10^{-3}$ g/mL	0,335
$2,788 \times 10^{-3}$ g/mL	0,340
$4,182 \times 10^{-3}$ g/mL	0,344
$5,576 \times 10^{-3}$ g/mL	0,348
$6,97 \times 10^{-3}$ g/mL	0,352

Fuente: Autor

Con los resultados obtenidos de la tabla anterior, se procedió a realizar la curva de calibración, para obtener la ecuación de la recta, la cual se muestra en la siguiente figura.

Figura 46. Curva de calibración del ácido láurico



Fuente: Autor

Como se puede apreciar en la figura anterior se obtuvo una ecuación de la recta con un  $R^2$  de 0.9977 lo que quiere decir que los resultados son confiables ya que indica una alta linealidad de los datos lo cual brinda confianza en análisis cuantitativos de este tipo al igual que la curva del clavo de olor. Posterior a la realización de la curva de calibración se procedió a analizar las muestras, las cuales se describen en la siguiente tabla.

Tabla 12. Concentraciones y absorbancias de las muestras

Muestra	Absorbancia
1	0,352

2	0,354
3	0,352

Fuente: Autor

Una vez analizadas las muestras y leídas las absorbancias se procedió a calcular las concentraciones de cada muestra, para calcular los gramos/mililitro obtenidos de ácido láurico en el aceite esencial y con esto poder realizar la formulación de la crema y las pruebas microbiológicas, como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 13. Concentraciones de las muestras y sus respectivos g/mL de ácido láurico

Muestra	Concentración	g/mL de aceite
1	0,0069g/mL	1,72g/mL
2	0,0075g/mL	1,87g/mL
3	0,0069g/mL	1,72g/mL
		Promedio: 1,77g/mL

Fuente: Autor

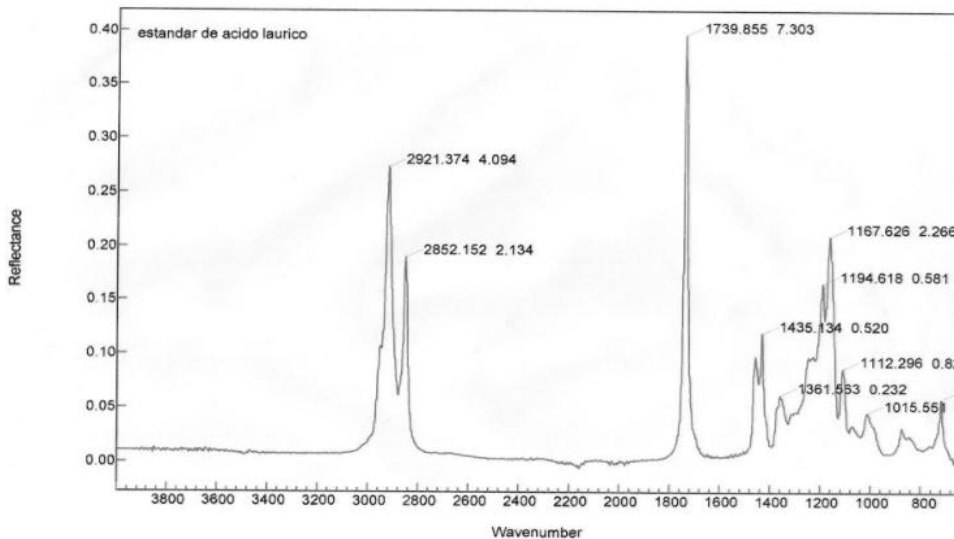
De la tabla anterior se puede interpretar que por cada mililitro del aceite esencial de coco obtenido se tienen 1,77 gramos.

### **Prueba de identificación del ácido láurico por medio de espectroscopía infrarroja**

Se determinó el espectro infrarrojo del aceite esencial de coco y se comparó con el patrón de ácido láurico de igual manera con ayuda del libro “Principios de análisis instrumental”, obteniendo los espectros de las siguientes figuras.

Figura 47. Espectro infrarrojo del patrón de ácido láurico

Agilent Resolutions Pro

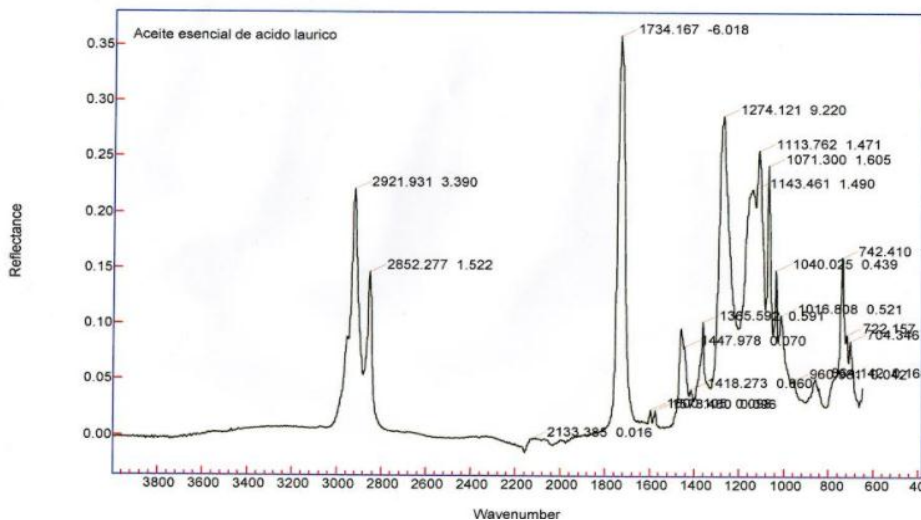


Fuente: Autor

Figura 48. Espectro infrarrojo del aceite esencial de coco

Aceite esencial de coco

Agilent Resolutions Pro



Fuente: Autor

En ambos espectros se

observa una señal a los 2921  $\text{cm}^{-1}$  la cual pertenece a los enlaces carbono-hidrógeno del

grupo  $\text{CH}_2$  presentes en la molécula del ácido láurico, además seguida de esta señal a los  $2852\text{ cm}^{-1}$  se observa una señal de gran importancia en la molécula de este ácido graso, la cual corresponde al ácido carboxílico presente en la molécula patrón y del aceite esencial en donde predomina el ácido láurico tal y como se muestra en la siguiente figura, además alrededor de los  $1220\text{ cm}^{-1}$  en el aceite y los  $1194\text{ cm}^{-1}$  en el estándar aparece la señal que corresponde a la torsión o estiramiento del carboxilo, otra señal de gran intensidad como se observa en las figuras 44 y 45 corresponde a la que aparece a los  $1739\text{ cm}^{-1}$  en el espectro del estándar y a los  $1734\text{ cm}^{-1}$  en el aceite esencial de coco, la cual corresponde al enlace carbono-oxígeno del carbonilo presente en el ácido carboxílico.

Figura 49. Molécula del ácido láurico



Fuente: Derouiche  
(2015)

### Formulación de la crema a partir de los aceites esenciales de coco y clavo de olor

Se tomó la decisión de obtener 100 gramos de crema, para ello se pesaron todos los componentes de la formulación y de los aceites esenciales como se menciona en la tabla 5, la crema se realizó al 2% debido a que antes de formular la crema se efectuaron diluciones de los aceites esenciales y se probaron microbiológicamente, obteniendo que las diluciones al 1% y al 2% fueron la más efectivas, el halo de inhibición de la dilución al 1% fue de 19mm mientras que la del 2% fue de 20mm por lo cual se decidió llevarla a cabo a esta concentración.

Para realizar la crema primero, se fundieron los materiales grasos, es importante fundirlos de acuerdo con su punto de fusión para que se mezclen homogéneamente, en esta mezcla oleosa, se agregó la porción de cada aceite, debido a que si se agrega en la fase acuosa o al final, el aceite va a tender a separarse y no va a tener la uniformidad necesaria.

Figura 50. Crema elaborada



Fuente: Autor

### **Método para el análisis microbiológico de los aceites esenciales y de la crema formulada**

Uno de los métodos más utilizados para determinar la eficacia de una sustancia sobre un microorganismo es el antibiograma, tal como mencionan Taroco, Seija y Vignoli (2006), es por ese motivo que se decidió realizar esa prueba en esta investigación, los estudios microbiológicos fueron realizados en el laboratorio Microlabs como se mencionó anteriormente, se efectuaron dos visitas al laboratorio, la primera fue para realizarle los análisis a las diluciones de los aceites esenciales las cuales se llevaron a cabo en aceite mineral debido a que su característica oleosa hace que los aceites sean solubles en éste, además se probó su actividad antifúngica en la cepa de *Candida Albicans* y el resultado fue negativo por lo cual no interfiere con el resultado final.

Las diluciones de los aceites se realizaron con ayuda de los datos obtenidos de las curvas de calibración, debido a que se obtuvieron los gramos de compuesto por cada mililitro de aceite, en el caso del eugenol 0,9667g/mL y en el caso del ácido láurico 1,77g/mL y con ello se prepararon diluciones al 0,1%, 0,5%, 1% y 2% realizadas de la siguiente manera: para obtener una solución al 0,1% se colocó 1g de aceites en 10mL de aceite mineral para lo cual se utilizaron entonces 0,5g de eugenol y 0,5g de ácido láurico para completar 1g y colocarlo en los 10mL del aceite mineral y así sucesivamente con el resto de las diluciones.

Una vez en el laboratorio se realizaron las preparaciones necesarias para obtener un sistema tipo antibiograma, el cual se efectuó en una cámara de flujo laminar, a las placas primero se realizaron unas pequeñas incisiones para depositar la muestra, posteriormente, se procedió a aplicar con el hongo con ayuda de un hisopo y por último se depositó con una micropipeta una pequeña cantidad de las diluciones, se esperaron 24 horas para observar resultados y medir los halos de inhibición los cuales se muestran en las siguientes tablas y figuras.

Tabla 14. Medición de los halos de inhibición obtenidos

Dilución	Medida del halo de inhibición(mm)
0,1%	0
0,5%	10mm
1%	19mm
2%	20mm

Fuente: Autor

Figura 51. Halos de inhibición de las diluciones ( el 1 corresponde al 0,1%, el 2 al 0,5%, el 3 al 1% y el 4 al 2%)



Fuente: Autor

El mismo procedimiento se realizó en la segunda visita con la crema y un control positivo el cual corresponde a una crema al 1% de clotrimazol, en este caso se tiene como referencia el halo de inhibición del clotrimazol, el cual según Suárez, Castillo y Carranza (2015) al realizar un antibiograma con dicho fármaco en *Candida Albicans* se obtiene que si el halo de inhibición es mayor a 19mm la *Cándida* es sensible, si el valor del halo se encuentra entre 11mm y 19mm presenta sensibilidad intermedia y si el halo es menor a 11mm la *Candida* es resistente al clotrimazol.

Al realizar los antibiogramas se observaron resultados muy interesantes en donde se obtuvo que el halo de inhibición representado por la crema realizada fue mucho mayor que el halo de inhibición obtenido con la crema de clotrimazol, indicando la gran efectividad de la crema realizada, a pesar de que el halo de inhibición del control positivo fue menor, éste se encuentra dentro del rango mencionado anteriormente, en el cual, según Suárez, Castillo y Carranza (2015) se clasifica como una sensibilidad intermedia ya que el resultado fue de 12mm, el halo de inhibición del clotrimazol pudo ser menor al de la crema realizada debido a diversos factores, entre ellos existe la posibilidad de un almacenamiento poco adecuado por parte de las personas que manipularon la crema o, también, puede deberse a falta de homogeneidad en la crema, sin embargo, es importante destacar que de acuerdo con los datos mencionados anteriormente la crema sí tiene efecto contra la

*Candida* al igual que la crema elaborada a partir del aceite esencial de clavo de olor y coco.

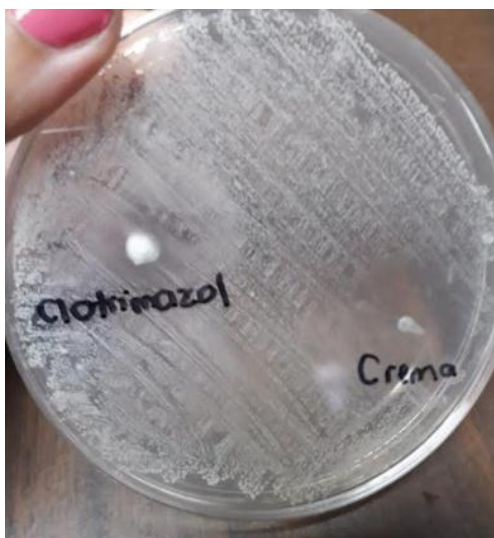


Figura 52. Halos de inhibición de la crema y el control positivo

Fuente: Autor

Tabla 15. Comparación de la crema realizada con un control positivo

<b>Compuesto</b>	<b>Medidas del halo de inhibición</b>
Crema elaborada	21mm
Control positivo(clotrimazol)	12mm

Fuente: Autor

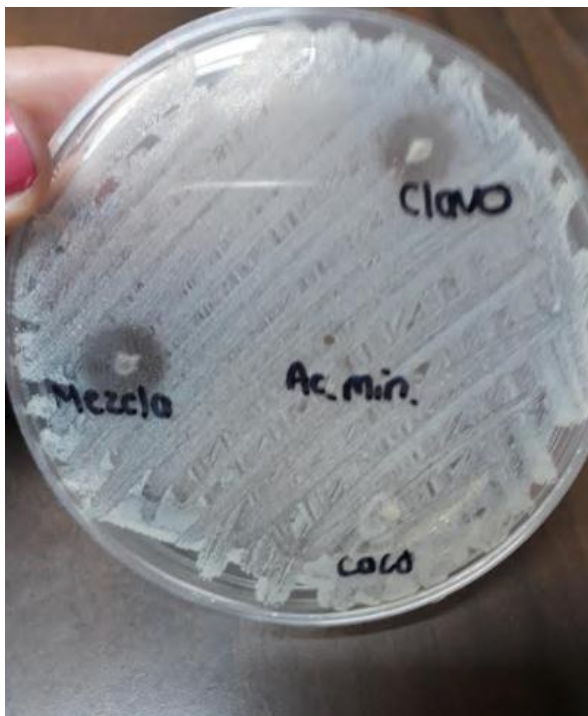
Una vez realizada la determinación de cuál dilución presentaba mayor actividad antifúngica, se realizó una comparación de ambos componentes(clavo de olor y coco) al 2% cada uno, y se colocó en otra placa un poco de aceite de clavo solo, en otro punto aceite de coco solo y por último, la mezcla de ambos, se determinó que el clavo de olor contiene mayor efectividad, ya que mostró un halo de inhibición de 10mm mientras que el coco mostró una inhibición de 4mm, además se observa que el halo del coco se encuentra oscuro, esto se debe a que el aceite tiene una alta viscosidad y al mezclarse con el agar toma este tipo de coloración lechosa como se aprecia en la figura 53, además se midió el halo de la mezcla obteniendo 15mm de inhibición.

Tabla 16. Comparación antifúngica del aceite de coco y clavo de olor

Aceite	Medida del halo de inhibición
Clavo de olor	10mm
Coco	4mm
Mezcla de ambos aceites	15mm

Fuente: Autor

Figura 53. Comparación antifúngica del aceite de coco y clavo de olor



Fuente: Autor

### **Determinación de la concentración mínima inhibitoria**

La Concentración Inhibidora Mínima se puede definir como la menor concentración de una serie de diluciones de antibiótico que provoca una inhibición de cualquier crecimiento bacteriano visible, es por ello que funciona como un indicador de la acción de la sustancia utilizada. ( Taroco, Seija y Vignoli, 2006, p.663)

En este caso para determinar la concentración mínima inhibitoria se establecieron las diluciones y se estableció en función de la menor concentración de las diluciones en donde se observó la inhibición de la *Candida*, en este caso la dilución del 0,1% no presentó ninguna inhibición, sin embargo, la del 0,5% sí presentó una ligera inhibición, por lo cual una formulación al 0,5% es la que contendría la concentración mínima inhibitoria para *Candida Albicans*.

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

- El método de destilación por arrastre de vapor y el método de destilación Soxhlet son muy efectivos a la hora de obtener un destilado con propiedades físicas y químicas adecuadas.
- El uso del filtrado al vacío para eliminar rastros del solvente orgánico de la muestra ayuda a obtener un compuesto más puro y de manera más rápida.
- Se logró obtener aceites muy similares a los descritos en la literatura, en el caso del clavo de olor un líquido amarillento, aceitoso y con olor dulce, y en el caso del coco un aceite muy viscoso, color café intenso y con un aroma dulce muy agradable.
- Se comprobó por medio de las pruebas de identificación el aceite esencial de clavo de olor contenía como componente principal el eugenol, mientras que el aceite de coco contenía en mayor proporción el ácido láurico.
- Los espectros obtenidos de ambos aceites fueron muy similares a los patrones respectivos.
- La espectroscopía UV-Vis es un excelente método para llevar a cabo cuantificaciones.
- Por medio de la curva de calibración se logró cuantificar la cantidad de compuesto que se obtuvo por mililitro.
- Se comprobó que ambos extractos contienen capacidades antifúngicas mediante la medición de los halos de inhibición presentes en las placas cultivadas.
- La mezcla de ambos aceites al 2% contiene una mayor actividad antifúngica.

- El aceite esencial de clavo de olor en comparación con el aceite esencial de coco, posee el mayor efecto antifúngico contra *Candida Albicans*.
- La dilución al 1% y 2% presentan halos de inhibición muy similares, por lo cual se puede concluir que ambas concentraciones serían efectivas en caso de una candidiasis.
- La crema formulada al 2% presenta incluso mayor actividad que el control positivo el cual fue clotrimazol al 1%.
- La concentración mínima inhibitoria de la mezcla de ambos aceites esenciales fue una dilución al 0,5%.

### **Recomendaciones**

- Se recomienda no calentar en exceso las muestras, para que no ocurran procesos de oxidación.
- En el método Soxhlet tener claro el punto de ebullición del disolvente orgánico.
- Es recomendable utilizar patrones con grados de pureza altos y primarios.
- Los extractos deben mantenerse lejos de la luz y en refrigeradora, cubiertos preferiblemente con papel aluminio para evitar pérdidas o reacciones indeseables, tales como oxidación.
- Sería de gran utilidad realizar una cromatografía de gases a los compuestos destilados
- Sería recomendable probar la crema no solo a nivel microbiológico, sino también, clínico para probar sus efectos reales, ya que los microbiológicos son una estimación del efecto producido

## REFERENCIAS

- Accame, M.(s.f). Clavo de especia María Emilia Carretero Accame.Recuperado de <https://botplusweb.portalfarma.com/Documentos/2010/3/3/42195.pdf>
- Aguilar, A.(2012). Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.Laboratorio de Química Orgánica.Recuperado de <http://quimicaorgancia1alejandraaguilar.blogspot.com/2012/02/practica-3-destilacion-por-arraastre-de.html>
- Aguilar, A, López, A.(2013). Extractos y aceite esencial del clavo de olor y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos. Departamento de ingeniería química, alimentos y ambiental, Universidad de las Américas,Puebla. Recuperado de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2014/12/TSIA-72-Aguilar-Gonzalez-et-al-2013.pdf>
- Alemán, L.Martínez, C., y Fernández, O.. (2010). Diagnóstico y prevalencia de infecciones vaginales. Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología, 36(2).Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-600X2010000200008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2010000200008)
- Arana,M. Correa, A y Oggero, A.(2014). El reino plantae: ¿Qué es una planta y cómo se clasifican?: Un cambio paradigmático. Departamento de Ciencias Naturales. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba.Recuperado de [https://www.researchgate.net/profile/Marcelo\\_Arana/publication/266202249\\_El\\_reino\\_plantae\\_Que\\_es\\_una\\_planta\\_y\\_como\\_se\\_clasifican\\_Un\\_cambio\\_paradigmatico\\_The\\_Kingdom\\_Plantae\\_What\\_Is\\_a\\_Plant\\_and\\_How\\_Are\\_They\\_Classified\\_A\\_Paradigmatic\\_Change/links/5429abee0cf27e39fa8e662e/El-reino-plantae-Que-es-una-planta-y-como-se-clasifican-](https://www.researchgate.net/profile/Marcelo_Arana/publication/266202249_El_reino_plantae_Que_es_una_planta_y_como_se_clasifican_Un_cambio_paradigmatico_The_Kingdom_Plantae_What_Is_a_Plant_and_How_Are_They_Classified_A_Paradigmatic_Change/links/5429abee0cf27e39fa8e662e/El-reino-plantae-Que-es-una-planta-y-como-se-clasifican-)

Un-cambio-paradigmatico-The-Kingdom-Plantae-What-Is-a-Plant-and-How-Are-They-Classified-A-Paradigmatic-Change.pdf

ASPECTOS HISTÓRICOS Y DESAFÍOS FUTUROS.Universidad de Chile. Recuperado de <http://phytomedchile.blogspot.com/2006/04/fitomedicina-y-fitoterapia.html>

Bautista, L. Ruiz, A. Vulvovaginitis: perspectivas etiológicas y epidemiológicas.(2011).Unida de Meicina Familiar, México.Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/medfam/amf-2011/amf114c.pdf>

Bioencicloedia.(2015).Reino Plantae.Recuperado de <http://www.bioenciclopedia.com/reino-plantae/>

Bioenciclopedia.(2016).Cocotero.Recuperado de <http://www.bioenciclopedia.com/cocotero/>

Brigham and women´s hospital.(2016 ). Division of Oral Medicine and Dentistry.Boston. Recuperado de [http://www.brighamandwomens.org/Departments\\_and\\_Services/surgery/services/oral-medicine/pdfs/ODPI1.8\\_BWH-Candidiasis-Oral-en-Espanol.pdf](http://www.brighamandwomens.org/Departments_and_Services/surgery/services/oral-medicine/pdfs/ODPI1.8_BWH-Candidiasis-Oral-en-Espanol.pdf)

Bruton, L.Katzung, B y Hernández, A.(2016). Farmacología General.McGrawhill

Cancelo, M. Beltrán ,D. Calaf , J. Campillo, F. Cano, A. Guerra, J. Neyro, J.(2013). Protocolo Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia de diagnóstico y tratamiento de las infecciones vulvovaginales. Protocolo actualizado en 2012. PROGRESOS de OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA,56(5). Recuperado de [file:///C:/Users/majo1/Downloads/S030450131300006X\\_S300\\_es.pdf](file:///C:/Users/majo1/Downloads/S030450131300006X_S300_es.pdf)

- Cannoni, G, Bórquez, S.(2011). Vulvovaginitis e Infecciones de Transmisión Sexual en la Adolescencia.Revista médica clínica Condes,22(1). Recuperado de [https://www.clinicalascondes.cl/Dev\\_CLC/media/Imágenes/PDF%20revista%20m%C3%A9dica/2011/1%20enero/6\\_Dra\\_Cannoni-8.pdf](https://www.clinicalascondes.cl/Dev_CLC/media/Imágenes/PDF%20revista%20m%C3%A9dica/2011/1%20enero/6_Dra_Cannoni-8.pdf)
- Cararach,M.Comino, R.Davi,E.Mrimon,E.Martínez, J.Palacios, S.Torres, J(2013). La vulvovaginitis candidiásica .recurrente.Progresos de obstetricia y ginecología,56(2).Recuperado de <http://www.elsevier.es/es-revista-progresos-obstetricia-ginecologia-151-articulo-la-vulvovaginitis-candidiasica-recurrente-S0304501312001641>
- Castañón, L.(2016). Candidiasis o candidosis.Universidad Nacional Autónoma de México: departamento de microbiología y parasitología. Recuperado de <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/candidosis.html>
- Castillo, A.(2011). Anatomía y fisiología del aparato reproductor femenino y de la mama.Complejo hospitalario universitario de Albacete.
- Cea, R.(2013).Fitofármacos. Célula Inventa Química y Farmacia Dirección de Innovación y Calidad.Ministerio de economía de El Salvador. Recuperado de <http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/Cea2013.pdf>
- Cervera, C.(2012).Candidemia y candidiasis invasora en el adulto. Formas clínicas y tratamiento.Elsevier, Recuperado de <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-candidemia-candidiasis-invasora-el-adulto--S0213005X12001073>
- ChamiI,N,ChamiI,F,BennisI,S,TrouillasII,J,RemmallI,A(2004). “Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats”. Brazilian Journal of

Infectious Diseases. Recuperado de [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-86702004000300005&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-86702004000300005&script=sci_arttext&tlng=es)

Cristina, R, Obiștioiu, D , Dumitrescu, E, Nichita, I , Muselin, F , Brezovan, D , Cernea, M. (2015). “Eugenol biologic activity in immunosuppressed rat females with *Candida albicans* genital infection: histocytological changes”. Turkish Journal of Biology. Recuperado de <http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=8de5542d-ebf4-472b-b7ea-c2e0499d3701%40sessionmgr4009&vid=8&hid=4114>

De la Torre, V. Martínez, M. Resedinz, J. (2014). Factores de riesgo y epidemiología de la candidemia en el Hospital Juárez de México. Medicina Interna de México. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2014/mim142b.pdf>

Debenedetti, S. Wilson, E. (2014). Farmacognosia y farmacoergasia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Belgrano. Recuperado de <http://repositorio.ub.edu.ar/handle/123456789/6081>

Debmandal, Mandal, S. (2011) Coconut (*Cocos nucifera* L.: Areaceae): In health promotion and disease prevention. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 4(3). Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764511600783>

Díaz, V. (2016). “Efecto inhibitor del aceite esencial de clavo de olor “*Syzygium aromaticum*” como agente antimicrobiano, sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro”. Tesis para optar por el título de odontología. Universidad Central del Ecuador.

Figueroa, E. (2013). Evaluación del rendimiento y caracterización fisicoquímica de la extracción de la fracción lipídica de la copra del coco (*cocos nucifera*) variedad verde utilizando tres

solventes a escala laboratorio. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química. Guatemala.

Gajanan,Z. Archana ,T. Sitaram, J,Karuppayil,M(2011). “Terpenoids inhibit Candida albicans growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle”. Elsevier. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711311001206>

García, J.Cantón, R.García, E.Gómez, L.Martínez, L.Rodríguez, C.Vila, J.(sf).Metodos básicos para el estudio de la sensibilidad ante los antimicrobianos. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.España.

González, R.(2002) Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso.Revista cubana de estomatología39(2). Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75072002000200005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000200005)

Granados, D. López, G.(2002). MANEJO DE LA PALMA DE COCO (Cocos nucífera L.) EN MÉXICO. Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/629/62980105/>

Guía de Asistencia Práctica.(2016).Diagnóstico y tratamiento de las infecciones vulvovaginales. Actualizado 2016 Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia

Guía de práctica clínica de diagnóstico y tratamiento de candidiasis invasiva en el adulto/s.f).México

Hall, V.Rocha, M.Rodríguez, E.(2002).CIMED: Centro Nacional de Información de Medicamentos.

Hernández, A.(2014).Farmacología general.México.McGraw-hill

- Hernández, R. (2014). Metodología de la investigación. México. McGraw-hill
- Ibarrola, M. Benito, J. Azcona, B y Zubeldía, N. (2009). Patología infecciosa: vulvovaginitis, enfermedades de transmisión sexual, enfermedad inflamatoria pélvica, abscesos tubo-ováricos Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Virgen del Camino. Pamplona. Recuperado de <http://scielo.isciii.es/pdf/asisna/v32s1/ginecologia3.pdf>
- Jenkins, D, Vindas, L. (2010). Evaluación del clavo de olor como agente antibacteriano para formular un enjuague bucal. (Tesis para obtener grado de licenciatura). Universidad Iberoamericana, San José, Costa Rica.
- Kearney, T, Tornberg-Belanger, S, Nirupa, R, Lichtenstein, A, Kumamoto, C. (2015). "Manipulation of Host Diet To Reduce Gastrointestinal Colonization by the Opportunistic Pathogen *Candida albicans*". American Society of Microbiology. Recuperado de <http://msphere.asm.org/content/1/1/e00020-15>
- Kearney, T. Tornberg-Belanger, S. Nirupa, R. Lichtenstein, A. Kumamoto, C. (2015). "Manipulation of Host Diet To Reduce Gastrointestinal Colonization by the Opportunistic Pathogen *Candida albicans*". American Society of Microbiology. Recuperado de <http://msphere.asm.org/content/1/1/e00020-15>
- Laforet, L. (2010). ESTUDIO DE PGA 26, UNA PROTEÍNA IMPLICADA EN LA ARQUITECTURA DE LA PARED CELULAR DE *CANDIDA ALBICANS*. Universidad de Valenci, España.
- Lamarque, A. (2008). Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica. Grupo editor ENCUESTRO. Argentina.

- León,J,Ulate,F.(2013). Formulación de un enjuague bucal a base de aceites esenciales de tomillo y clavo de olor con propiedades antimicrobianas. (Tesis para el grado de licenciatura). Universidad Iberoamericana, San José, Costa Rica.
- López, M.(2004). Los aceites esenciales Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias.Fitoterapia.23(7).
- Lorenzo, P.(2008).Velázquez, Farmacología Básica y clínica. Editorial Panamericana
- Llargués, J.(2016). ACEITE DE COCO UN REGALO DE LA NATURALEZA. España. Ediciones Obelisco.
- Magariños, M. Rodríguez, C.(s.f).Situaciones clínicas más relevantes Candidiasis.Tratado de geriatría para residentes. Recuperado de file:///C:/Users/majo1/Downloads/S35-05%2044\_III%20(1).pdf
- Martínez,A.(s.f). Infecciones cutáneas micóticas.Asociacion Española de Pediatría. Recuperado de <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/micosis.pdf>
- Mora, O.(2003). Ácido láurico: componente bioactivo del aceite de palmiste.Palmas. Vol 24.
- Morales, S.(2006). FITOMEDICINA Y FITOTERAPIA EN CHILE :
- Morales,A. González,E. P. Morales,J.(2014). Plantas Medicinales y Medicina Natural.Chile.Ocho libros
- Morales,H.(2012). Análisis in vitro del efecto antibacteriano del aceite esencial del clavo de olor (syzygium aromaticum) sobre una de las principales cepas bacterianas causales de faringoamigdalitis (streptococcus pyogenes) realizado durante los meses de mayo y agosto

del 2012.(tesis para optar ´por el grado de licenciatura). Universidad Internacional de las Américas, San José, Costa Rica.

Ogbolu DO ,Oni AA ,Daini OA ,Oloko AP.(2007). In Vitro Antimicrobial Properties of Coconut Oil on Candida Species in Ibadan, Nigeria.Journal Medicinal Food.Recuperado de <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jmf.2006.1209>

Organización Mundial de la Salud. (2012). Definiciones de la Organización Mundial de la Salud.Recuperado de [http://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/definitions/es/index.html](http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/index.html)

Organización Mundial de la Salud.(2003). Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales.Recuperado de <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s5527s/s5527s.pdf>

Perea, E.(2010). Infecciones del aparato genital femenino: vaginitis, vaginosis y cervicitis. Departamento de Microbiología. Universidad de Sevilla. España.Recuperado de [http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Vaginitis\\_vaginosis\\_cervicitis\\_Medicine2010.pdf](http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Vaginitis_vaginosis_cervicitis_Medicine2010.pdf)

Peredo, H. Palau, E y López, A.(2009). Aceits esenciales: métodos de extracción. Universidad de las Américas Puebla México. Recuperado de [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)

Pinheiro, P.(2017). Candidiasis vaginal: causas, síntomas y tratamiento.Md Saúde. Recuperado de <http://www.mdsaude.com/es/2015/11/candidiasis-vaginal.html>

Pitarch,S.(2000). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites -esenciales.Dialnet.  
Recuperado de file:///C:/Users/majo1/Downloads/Dialnet-EvaluacionDeLaActividadAntimicrobianaDeLosAceitesE-4989220%20(1).pdf

Pradenas, M,(2014). INFECCIONES CÉRVICO VAGINALES Y EMBARAZO. Unidad de Medicina Materno Fetal. Departamento Ginecología y Obstetricia. Clínica Las Condes.Recuperado de file:///C:/Users/majo1/Downloads/S0716864014706406\_S300\_es.pdf

Prevalencia por diagnóstico inmunológico de Candida spp, Trichomonas vaginalis y Gardnerella vaginalis en mujeres embarazadas a nivel primario del sistema de salud.Revista cubana de obstetricia y ginecología,36(1). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0138-600X2010000100009

Renaud, A.(2007). INFECCIONES VAGINALES POR CANDIDA: DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO.Revista ginecológica obstetra. Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ginecologia/vol53\_n3/pdf/A04V53N3.pdf

Rodríguez, N, Pérez, J, Iglesias, J, Gallego, R, Veiga, B, Cotelo ,N.(2015). Actualidad de las plantas medicinales en terapéutica. Acta Farmacêutica Portuguesa,4(1).Recuperado de http://www.actafarmacêuticaportuguesa.com/index.php/afp/article/view/59/118

Sancho, J.(2012). Características generales de la espectrofotometría.Universidad de Alicante.

Souza, C.Pereira,W.(2014).Clove: A precios spice.Asian Pacific Journal of tropical biomedicine.Recuperado de file:///C:/Users/majo1/Downloads/Clove\_Syzygium\_aromaticum\_A\_precious\_spice.pdf.

Suárez,A .Castillo,I .Carranza,L .(2015). “Perfil de resistencia micótica de Candida sp. al clotrimazol, fluconazol y nistatina en mujeres durante la segunda mitad del embarazo con candidiasis vulvo-vaginal atendidas en el hospital L. F. M. en el período de Octubre- Noviembre de 2015.”. Informe final de tesis para optar al título de doctor en medicina y cirugía.Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.

Stashenko, E.(2009).Aceites esenciales.Universidad Industrial de Santander.Colombia

Stook.Holler.Nieman.(2001).Principios de análisis instrumental.McGRAW-Hil.Madrid, España.

Taroco, R. Seija, V. Vignoli, R. (2006). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica.Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>

Tobalina, F.(2013). Espectroscopía UV-Vis para el análisis de muestras líquidas y sólidas. Instituto Nacional de Toxicología. Madrid, España.

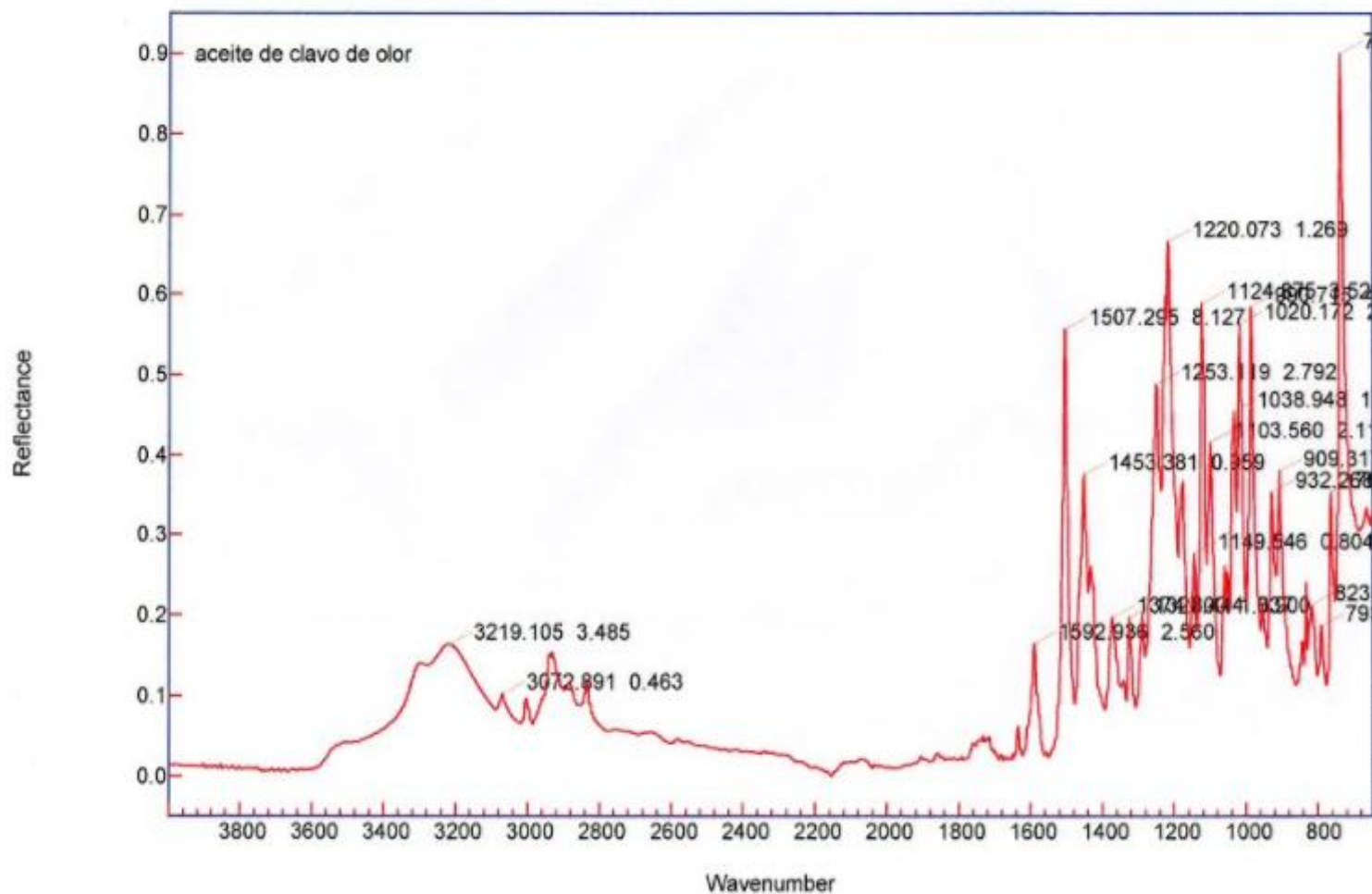
Torres, G. Nájera, F.(2009). La mecánica cuántica.Espectroscopía infrarroja. Universidad de Málaga

Veloz,T.(2011). Eficacia in-vitro de un colutorio elaborado con aceite esencial de ishpingo y clavo de olor (Tesis previa a la obtención del título de ingeniero en biotecnología de los recursos naturales). Universidad Politécnica Salesiana sede Quito, Ecuador.

Villalobos, K. Herrera, M. (2001). Pruebas de sensibilidad a los antibióticos; su utilidad según agente infeccioso .Revista Médica del Hospital Nacional de Niños.32(1). Recuperado de [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1017-85462001000100010](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462001000100010)

## ANEXOS

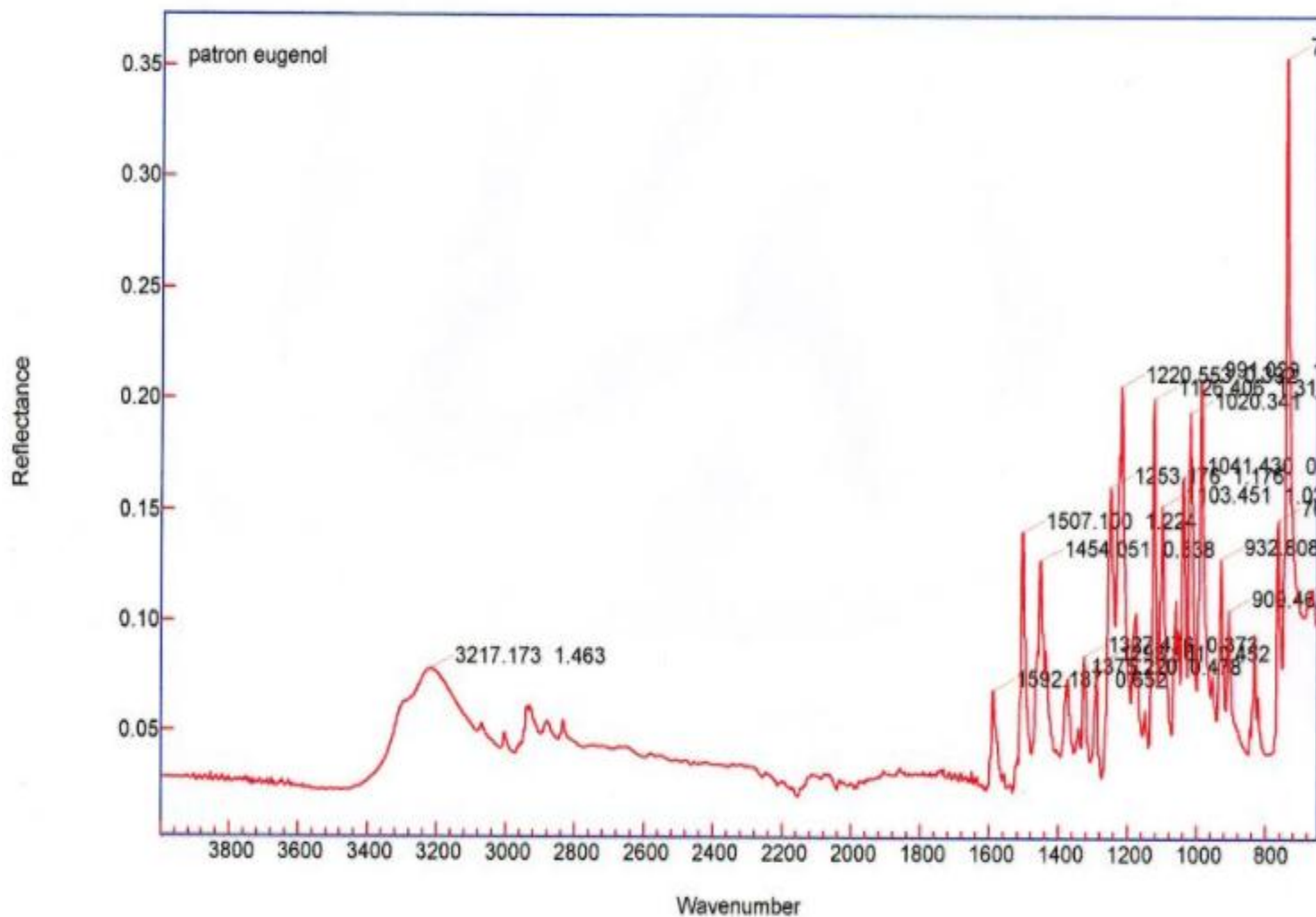
Agilent Resolutions Pro



## A. Espectro infrarrojo del aceite esencial de clavo de olor

Aceite esencial de clavo de olor

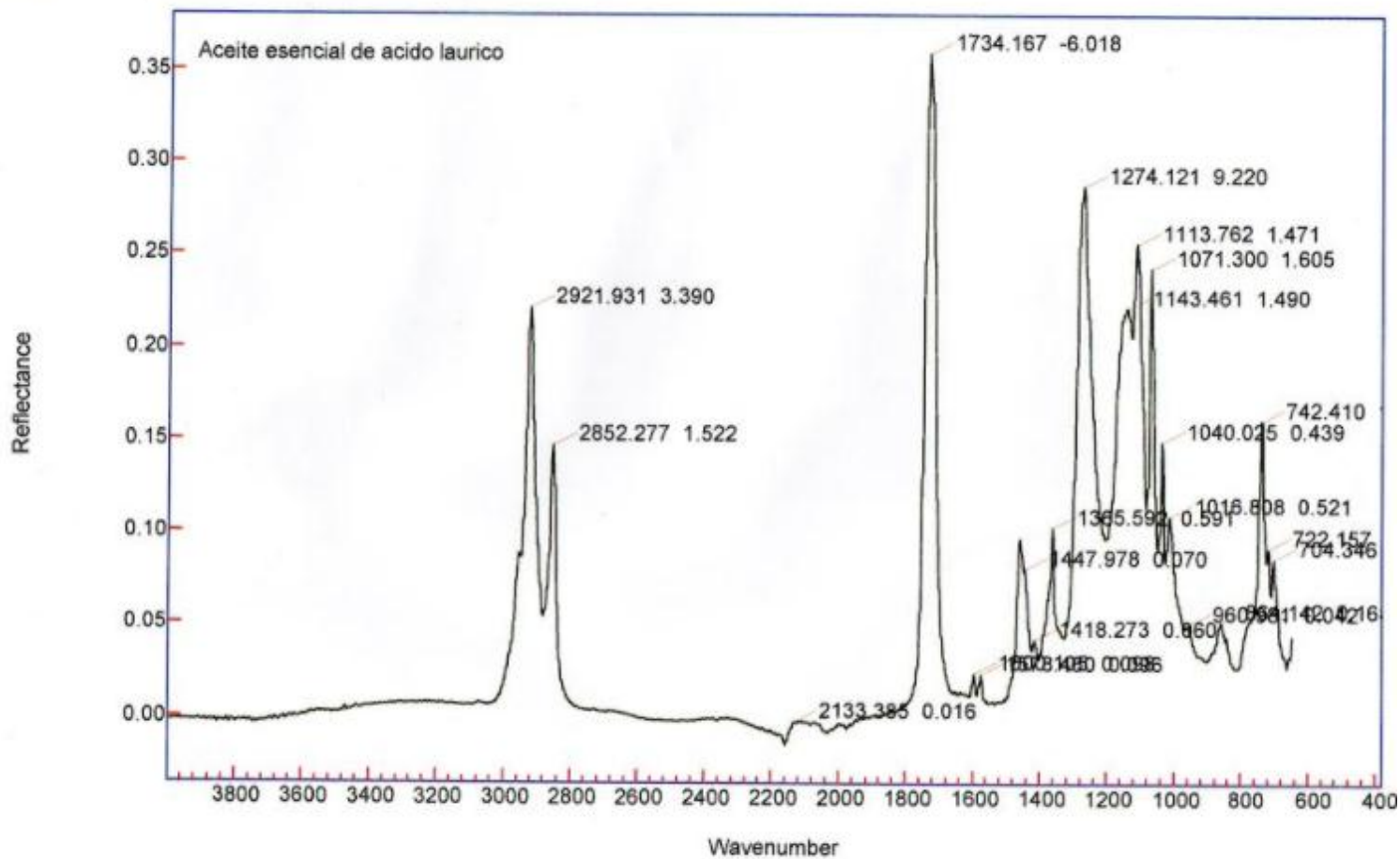
### Agilent Resolutions Pro



### B. Espectro infrarrojo del patrón de eugenol

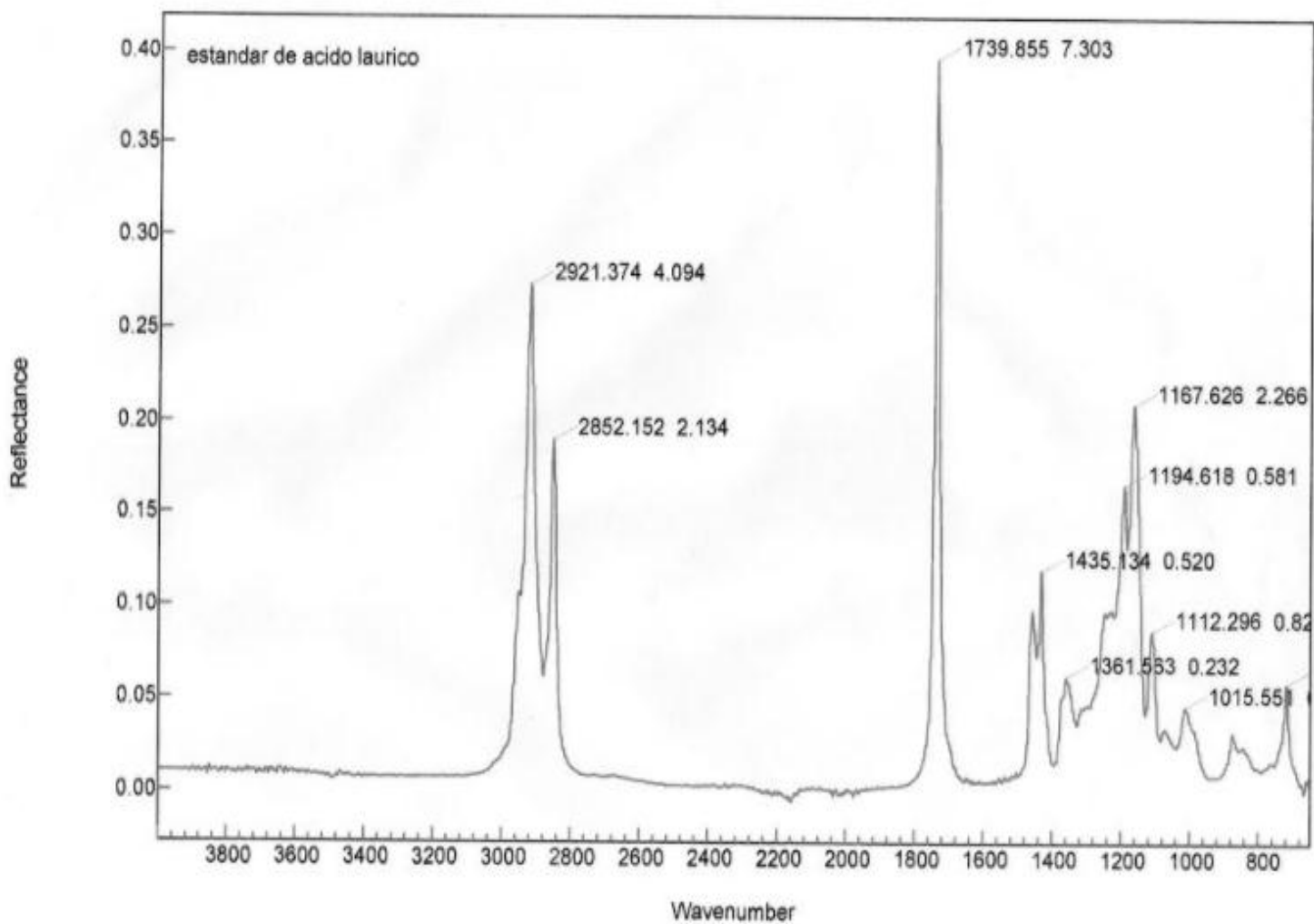
Patrón de eugenol

**Agilent Resolutions Pro**



**C. Espectro infrarrojo del aceite esencial de coco**

Aceite esencial de coco

**Agilent Resolutions Pro****D. Espectro infrarrojo del patrón de ácido láurico**

### E. Cálculos para la cuantificación de eugenol en el aceite esencial de clavo de olor

- **Cálculo de la concentración de los patrones de referencia**

Pureza del patrón: 82,6%

Humedad: 0,26%

Cantidad de patrón pesado: 0,05g

Factor de dilución: 1250

Concentración de la solución madre:  $\frac{0,05g \times 82,6}{1250} \times \left(\frac{100-0,26}{100}\right) = 0,0329g/mL$

Concentración del patrón 1:  $\frac{0,0329g}{mL} \times \frac{1}{50} = 6,6 \times 10^{-4}$

Concentración del patrón 2:  $\frac{0,0329g}{mL} \times \frac{2}{50} = 1,3 \times 10^{-3}$

Concentración del patrón 3:  $\frac{0,0329g}{mL} \times \frac{3}{50} = 2,0 \times 10^{-3}$

Concentración del patrón 4:  $\frac{0,0329g}{mL} \times \frac{4}{50} = 2,6 \times 10^{-3}$

Concentración del patrón 5:  $\frac{0,0329g}{mL} \times \frac{5}{50} = 3,3 \times 10^{-3}$

- **Cálculo de la concentración de las muestras de aceite**

$$y = mx + b$$

En donde:

m: 183,06

b: 0,123

$R^2$ : 0,9986

Absorbancias de las muestras:

Muestra 1: 0,478

Muestra 2: 0,476

Muestra 3: 0,477

Concentraciones de muestras

$$\text{Concentración de muestra 1: } \left( \frac{0,478-0,123}{183,06} \right) = 0,001939 \text{ g/mL}$$

$$\text{Concentración de muestra 2: } \left( \frac{0,476-0,123}{183,06} \right) = 0,001928 \text{ g/mL}$$

$$\text{Concentración de muestra 3: } \left( \frac{0,477-0,123}{183,06} \right) = 0,001933 \text{ g/mL}$$

Calculo en gramos de eugenol por cada mL de aceite esencial

$$\text{g/mL de muestra 1: } 0,001939 \text{ g/mL} \times \frac{10}{1} \times \frac{50}{1} = 0,9695 \text{ g/mL}$$

$$\text{g/mL de muestra 2: } 0,001928 \text{ g/mL} \times \frac{10}{1} \times \frac{50}{1} = 0,964 \text{ g/mL}$$

$$\text{g/mL de muestra 3: } 0,001933 \text{ g/mL} \times \frac{10}{1} \times \frac{50}{1} = 0,9665 \text{ g/mL}$$

Promedio: 0,9666g/mL

## F. Cálculos para la cuantificación de ácido láurico en el aceite esencial de coco

- **Cálculo de la concentración de los patrones de referencia**

Pureza del patrón: 99,0%

Densidad: 0,88g/mL

Cantidad equivalente de patrón:  $0,88\text{g/mL} \times 0,1\text{mL} = 0,088\text{g}$

Factor de dilución: 125á

Concentración de la solución madre:  $\frac{0,088\text{g} \times 990}{1250} = 0,069\text{g/mL}$

Concentración del patrón 1:  $\frac{0,069\text{g}}{\text{mL}} \times \frac{1}{50} = 1,394 \times 10^{-3}$

Concentración del patrón 2:  $\frac{0,069\text{g}}{\text{mL}} \times \frac{2}{50} = 2,788 \times 10^{-3}$

Concentración del patrón 3:  $\frac{0,069\text{g}}{\text{mL}} \times \frac{3}{50} = 4,182 \times 10^{-3}$

Concentración del patrón 4:  $\frac{0,069\text{g}}{\text{mL}} \times \frac{4}{50} = 5,576 \times 10^{-3}$

Concentración del patrón 5:  $\frac{0,069\text{g}}{\text{mL}} \times \frac{5}{50} = 6,97 \times 10^{-3}$

- **Cálculo de la concentración de las muestras de aceite**

$$y = mx + b$$

En donde:

m: 3,0729

b: 0,3312

$R^2$ : 0,9977

Absorbancias de las muestras:

Muestra 1: 0,352

Muestra 2: 0,354

Muestra 3: 0,352

Concentraciones de muestras

$$\text{Concentración de muestra 1: } \left( \frac{0,352-0,3312}{3,0729} \right) = 0,006768g/mL$$

$$\text{Concentración de muestra 2: } \left( \frac{0,354-0,3312}{3,0729} \right) = 0,007419g/mL$$

$$\text{Concentración de muestra 3: } \left( \frac{0,352-0,3312}{3,0729} \right) = 0,006768g/mL$$

Cálculo en gramos de ácido láurico por cada mL de aceite esencial

$$g/mL \text{ de muestra 1: } 0,006768g/mL \times \frac{10}{1} \times \frac{50}{2} = 1,692g/mL$$

$$g/mL \text{ de muestra 2: } 0,007419g/mL \times \frac{10}{1} \times \frac{50}{2} = 1,855g/mL$$

$$g/mL \text{ de muestra 3: } 0,006768g/mL \times \frac{10}{1} \times \frac{50}{2} = 1,692g/mL$$

Promedio: 1,77g/mL

### G. Cálculo de las diluciones realizadas en aceite mineral

$$\frac{1g}{10mL} = 0,1\%$$

$$\frac{5g}{10mL} = 0,5\%$$

$$\frac{10g}{10mL} = 1\%$$

$$\frac{20g}{10mL} = 2\%$$

Para realizar las diluciones se hicieron mezclas de los extractos de la siguiente manera:

Para 0,1%:

Se necesita 1g en total lo que equivale a 0,5g de aceite de coco y 0,5g de aceite de clavo de olor, entonces por regla de 3

Clavo de olor	Coco
0,9666g → 1mL	1,77g → 1 mL
0,5g → x mL	0,5g → x mL
X= 0,52mL	X= 0,28mL

Para 5g se necesitan 2,5g de aceite de coco y 2,5g de aceite de clavo de olor

Clavo de olor	Coco
0,9666g → 1mL	1,77g → 1 mL
2,5g → x mL	2,5g → x mL
X= 2,7mL	X= 1,5mL

Para 10g se necesitan 5g de aceite de coco y 5g de aceite de clavo de olor

Clavo de olor

0,9666g → 1mL

5g → x mL

X= 5,2mL

Coco

1,77g → 1 mL

5g → x mL

X= 2,8mL

Para 20g se necesitan 10g de aceite de coco y 10g de aceite de clavo de olor

Clavo de olor

0,9666g → 1mL

10g → x mL

X= 10,3mL

Coco

1,77g → 1 mL

10 g → x mL

X= 5,6mL



**I. Propuesta de etiqueta y logo para la crema realizada**

Indicaciones: vulvovaginitis candidiásica

Fabricado por: Laboratorios M&J

Dosis: La recomendada por el médico

Vence: dic 2019

Medicamento de uso tópico de prescripción médica

Lote: C-263578

No dejar al alcance de los niños, si se presenta alguna reacción adversa suspender su uso y consultar al médico

