

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

“Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del
Ficus citrifolia Mill. (*Moraceae*), *in vitro* frente a cepas de
Staphylococcus aureus”

Tesis para optar el título profesional de
Químico Farmacéutico y Bioquímico

TESISTA:

Fernando André Rodríguez Zelada

ASESOR:

Nora Gabriela Herrera Hernández

LIMA – PERÚ
2018

DEDICATORIA

Para mis amados padres Andrés y Jovita por todo su apoyo incondicional, sus enseñanzas y consejos a lo largo de mi vida, su presencia es lo que me ha hecho llegar hasta aquí.

Para mis hermanos Eduardo y Carlos, ya que siempre me han acompañado dándome fuerzas para alcanzar mis metas.

Para mis abuelos maternos Apolinar y Manuela quienes desde el cielo me cuidan y protegen; también, para mis abuelos paternos Andrés y Luisa por enseñarme que para lograr algo se necesita mucho esfuerzo y dedicación.

Para mis tíos Ángel, Sara y Teresa por su preocupación en mi desarrollo personal, por su cariño y sus consejos; igualmente a mis primos.

Para todo el equipo de farmacia en la clínica Oncosalud por su amistad y soporte brindado.

Para mis amigos Octavio, Fernando, Erick, Kenyi, Christian, Ana, Liz, Bernardita y Tiare por ofrecerme su amistad incondicional y acompañarme durante varios años.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer de manera especial a la profesora Nora Gabriela Herrera Hernández, Q.F. directora del grupo de investigación en Productos Naturales de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por permitirme formar parte este grupo, además, por todo el apoyo y consejos brindados en el transcurrir de este periodo de investigación.

Asimismo, quiero darle las gracias al profesor Gilmer Solis Sánchez por su continuo apoyo en la realización de esta investigación.

A nuestra alma mater, la Universidad Inca Garcilaso de la Vega por dejarnos utilizar los laboratorios y equipos con el fin de realizar la investigación.

A todos los miembros del grupo de investigación: Jilmer Carranza Chávez, Dick Fabián Medina, Denisse Orejón Gómez, Ana Mayhua Orellana y Javier Fernández Flores, ya que sin su apoyo no se hubiesen podido realizar las investigaciones de algunas especies del género *Ficus*.

Por último, deseo agradecer a todos los profesores de nuestra facultad por su dedicación en la enseñanza y por habernos formado como profesionales.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Operacionalización de variables.

Tabla 2: Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en MeOH (F_M).

Tabla 3: Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble H₂O (F_H).

Tabla 4 Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble H₂O acidificado.

Tabla 5: Resultado del diámetro (mm) de los halos de inhibición de Tetraciclina, DMSO y *Ficus citrifolia* Mill.

Tabla 6: Resultado de la media de los halos de inhibición de tetraciclina y el extracto crudo de *Ficus citrifolia* Mill. más menos la desviación estándar.

Tabla 7: Resultados de la prueba T de student para muestras independientes.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química de friedelina, acetato de taraxerilo, ácido betunílico, ácido oleanoico; 2'-hidroxiisoprunetina; 6,7-(2-isopropenil furo)-5,2',4'-trihidroxiisoflavona, cajanina y ácido protocateuico.

Figura 2: Estructura química del lutaósido.

Figura 3: Estructura química de ficusamida;(S)-(-) Hidrato de oxipeucedanina; (R)-(+ Hidrato de oxipeucedanina.

Figura 4: Estructura química de acetato de lupeol; cicloart-23-en-3,25-diol; β -sitosterol; 5,7,4'-trihidroxiflavan-3-ol R=H; epicatequina R=OH e isovitexina.

Figura 5: Estructura química de catequina, genisteina, β -sitosterol, estigmasterol.

Figura 6: Resultado del porcentaje de inhibición del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill.

Figura 7: Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente al extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill.

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia.

Anexo 2: Operacionalización de las variables.

Anexo 3: Data de consolidación de resultados del efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

Anexo 4: Certificado de identificación botánica.

Anexo 5: Certificado de análisis de la cepa bacteriana.

Anexo 6: Lectura en espectrofotómetro del estándar de Mc.Farland.

Anexo 7: Ficha de recolección de datos para la evaluación del efecto antimicrobiano.

Anexo 8: Ficha de validación del instrumento de recolección de datos.

Anexo 9: Testimonios fotográficos.

Anexo 10: Grupo de investigación en Productos Naturales.

RESUMEN

En la investigación se evaluó el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. utilizando el método de difusión en disco también llamado método Kirby-Bauer. Se usaron 12 placas conteniendo agar no selectivo Mueller-Hinton en las cuales se sembró previamente cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se evaluaron 3 grupos: Dimetilsulfóxido 2.5% (v/v), Tetraciclina 30 µg y Extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. a una concentración de 100 mg/mL (control negativo, control positivo, muestra). El tamizaje fitoquímico se realizó con el extracto crudo hidroalcohólico al 80% de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill., disuelto en metanol, agua y agua acidificada. Los resultados obtenidos muestran que la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. posee los siguientes metabolitos secundarios: Flavonoides, alcaloides, taninos, taninos condensados, triterpenos, lactonas α - β insaturadas, dobles enlaces y compuestos oxidables. El resultado del ensayo dio como positivo el efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. a una concentración de 100 mg/mL con un porcentaje de inhibición de 47.96% en comparación con la Tetraciclina, habiendo diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el extracto y el control positivo usado. Se concluyó que la presencia de esta variedad de metabolitos secundarios fue responsable del efecto antimicrobiano exhibido por el extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill.

Palabras clave: *Ficus citrifolia*, resistencia antimicrobiana, metabolitos secundarios, efecto antimicrobiano.

ABSTRACT

In the research, the antimicrobial effect of the ethanolic extract of the bark of *Ficus citrifolia* Mill. was evaluated using the disc diffusion method also called the Kirby-Bauer method. Twelve plates containing non-selective agar Mueller-Hinton were used in which strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 were previously planted. Three groups were evaluated: Dimethylsulfoxide 2.5% (v/v), Tetracycline 30 µg and Ethanolic extract of *Ficus citrifolia* Mill. at a concentration of 100mg/mL (negative control, positive control, sample). The phytochemical screening was performed with the hydroalcoholic crude extract at 80% of the bark of *Ficus citrifolia* Mill., dissolved in methanol, water and acidified water. The results obtained show that the bark of *Ficus citrifolia* Mill. possesses the following secondary metabolites: Flavonoids, alkaloids, tannins, condensed Tannins, triterpenes, α - β unsaturated lactones, double bonds and oxidizable. The result of the test showed positive antimicrobial effect of the ethanolic extract of *Ficus citrifolia* Mill. at a concentration of 100mg/mL with a percentage of inhibition of 47.96% in comparison with Tetracycline, having a significant difference ($p < 0.05$) between the extract and the positive control used. It is concluded that the presence of this variety of secondary metabolites is responsible for the antimicrobial effect exhibited by the ethanolic extract of the bark of *Ficus citrifolia* Mill.

Key words: *Ficus citrifolia*, antimicrobial resistance, secondary metabolites, antimicrobial effect.

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1 Descripción de la realidad problemática	2
1.2 Formulación del problema	4
1.2.1 Problema general	4
1.2.2 Problemas específicos	4
1.3 Objetivos de la investigación	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos	4
1.4 Justificación y viabilidad de la investigación	5
1.6 Limitación de la investigación	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	7
2.1. Antecedentes de la investigación	7
2.1.1 Antecedentes Nacionales	7
2.2.2 Antecedentes Internacionales	8
2.2. Bases Teóricas	13
2.2.1 Descripción de la especie	13
2.2.2 Metabolitos secundarios con efecto antimicrobiano extraídos del género <i>Ficus</i>	16
2.2.3 Extracción	19
2.2.4 Métodos de Extracción	19
2.2.5 Tipos de Extracción con solventes	20

2.2.6 Extractos.....	21
2.2.7 Tipos de Extractos	21
2.2.8 Agentes Antimicrobianos.....	22
2.2.9 Descripción de la bacteria en estudio	22
2.3. Formulación de hipótesis.....	23
2.3.1. Hipótesis general	23
2.3.2. Hipótesis específica	24
2.4 Operacionalización de variables e indicadores.....	24
2.5 Definición de términos básicos	24
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	27
3.1 Tipo de Investigación	27
3.2. Diseño de la investigación	27
3.2.1 Preparación de la muestra	27
3.2.2 Obtención del extracto crudo hidroalcohólico.....	28
3.2.3 Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico	28
3.2.4 Efecto Antimicrobiano	28
3.3 Población y muestra de la investigación	29
3.3.1 Población vegetal:.....	29
3.3.2 Muestra vegetal.....	29
3.3.3 Población microbiana	29
3.3.4 Muestra microbiana	29
3.4 Técnica e instrumento de recolección de datos	30
3.4.1 Técnica de recolección de datos	30
3.4.2 Instrumento de recolección de datos	30
3.4.3 Validación de instrumento	30
3.5 Técnicas para el procesamiento de datos	31
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	33
4.1 Resultados del tamizaje fitoquímico	33
4.2 Resultados del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del <i>Ficus citrifolia</i>	35
4.3 Prueba de Hipótesis.....	37
4.4 Discusión de resultados	38
4.4.1 Tamizaje fitoquímico	38
4.4.2 Efecto antimicrobiano.....	38
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	41
5.1 Conclusiones	41

5.2 Recomendaciones	41
Referencias Bibliográficas	42
Anexos	51
Anexo 1	51
Anexo 2	52
Anexo 3:	53
Anexo 4	55
Anexo 5	56
Anexo 6	58
Anexo 7	59
Anexo 8	60
Anexo 9	63
Anexo 10	68

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la resistencia a los antibacterianos se ha convertido en uno de las dificultades más trascendentes que afronta la salud pública mundial. Estos fármacos se utilizan para tratar un gran número de enfermedades infecciosas y evitar un posible desenlace fatal.(1) Sin embargo, es el uso excesivo de estos medicamentos lo que conlleva al desarrollo de una mayor resistencia.(2)

De este modo, se buscan alternativas para nuevos tratamientos de enfermedades infecciosas, recurriendo así al uso empírico de diversas especies naturales.

El siguiente estudio tiene la finalidad de validar el uso etnofarmacológico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. la cual es utilizada como un antimicrobiano para el tratamiento de infecciones por heridas. De esta manera, se busca brindar una alternativa natural a la población e incluso motivar a futuras investigaciones con el fin de lograr el desarrollo de un nuevo medicamento.

En la investigación se realizó una evaluación in vitro del efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. a una concentración de 100 mg/mL frente a cepas de *Staphylococcus aureus*; se utilizó de control positivo un fármaco antimicrobiano de referencia con el fin de comparar los efectos inhibitorios de ambos.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática.

Actualmente, la resistencia antimicrobiana de las bacterias se ha convertido en un problema mundial. Esta tiene efecto en el tratamiento del paciente, como también tiene repercusiones en la comunidad en general, por ejemplo, en relación con el tratamiento de ciertas enfermedades donde es necesario cambiarlo cuando la resistencia alcanza un grado que compromete la efectividad de los agentes antiinfecciosos.(1) El uso empírico entonces, puede llegar a ser ineficaz, motivando a la frecuente actualización de los posibles esquemas terapéuticos.(3)

La resistencia a los antimicrobianos ha llegado a considerarse una emergencia, la cual es provocada por diversos factores interrelacionados entre sí, tales como el uso de los fármacos y especialmente el uso indebido de estos.(2) Los organismos multirresistentes causan infecciones asociadas con estancias hospitalarias prolongadas, aumento de mortalidad, mayor tasa de fracaso terapéutico e incremento de los costos que se producen durante la atención clínica, los cuales amenazan el sostén de los sistemas sanitarios.(4)

Además, existe un incremento en la cantidad de antibióticos en estiércol debido al uso de estos fármacos en el ganado, teniendo como consecuencia una mayor tasa de genes y organismos resistentes a los antimicrobianos diseminados en el medio ambiente.(5)

La resistencia microbiana a los antimicrobianos es un tema extenso. De esta manera, se puede referir a tres tipos de mecanismos de resistencia: individual, poblacional y poblacional en microorganismos que se encuentran produciendo una infección.

Resistencia individual: se refiere a la interacción entre un antibiótico determinado y una célula bacteriana con su arsenal metabólico y genético.

Resistencia poblacional: es representación del comportamiento de un inóculo bacteriano preestablecido in vitro frente a un antibiótico a una determinada concentración durante un período de tiempo determinado.

Resistencia poblacional en microorganismos que están produciendo una infección: se habla ya de eficacia terapéutica, se toman en cuenta diversos factores tales como: sitio de infección, estado inmunológico del paciente, propiedades del antimicrobiano (dosis, fraccionamiento diario) y otras.(6)

En la resolución WHA (World Health Association) 60.16, la asamblea de la salud perteneciente a OMS (Organización Mundial de Salud) propone el uso de medicamentos de forma racional y documentada científicamente; el apoyo a diversos países en la aplicación de programas nacionales; reforzar la coordinación del apoyo; fomentar la investigación sobre las intervenciones sostenibles, y promover el debate sobre el tema entre las autoridades sanitarias, los profesionales y los pacientes.(7)

En su estrategia mundial, la OMS trata de contener esta problemática recomendando la estimulación de las medidas de prevención de infecciones con el propósito evitar una acelerada aparición de resistencia y así poder reducir la propagación de microorganismos resistentes (8), de esa manera, se realizó la publicación del primer listado de «patógenos prioritarios» con resistencia antimicrobiana, en el cual se incluyeron 12 familias de microorganismos con mayor riesgo para la salud.

Este listado se descompone en tres categorías con base en el apremio con el que se necesita el desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos: prioridad crítica, alta o media.

En el primer grupo (prioridad crítica) se incluyen aquellas bacterias que han demostrado mayor resistencia: *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y una diversidad de Enterobacteriáceas como *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia*, y *Proteus*.

En el segundo y tercer nivel (prioridad alta y media) se encuentran bacterias que demuestran una creciente resistencia a los fármacos, por ejemplo: *Staphylococcus aureus* con resistencia a la meticilina.(9)

Estas cepas, en la actualidad, han obtenido una mayor resistencia a los agentes antimicrobianos, pudiéndose hallar cepas resistentes y multirresistentes.(10)

En esta continua investigación de nuevos agentes antimicrobianos que sucedan a los fármacos sintéticos, el *Ficus citrifolia* Mill. aparece como una posible opción

ante dicha problemática debido a los múltiples usos ancestrales que posee esta especie.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿El extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. posee efecto antimicrobiano *in vitro* frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Qué tipo de metabolitos secundarios poseerá el extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill.?
2. ¿El extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. poseerá efecto antimicrobiano a una concentración de 100 mg/mL?
3. ¿En qué magnitud el extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. a 100 mg/mL poseerá efecto antimicrobiano en comparación con el fármaco Tetraciclina 30 µg?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. *in vitro* frente a las cepas *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill.
2. Comprobar si el extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. posee efecto antimicrobiano a una concentración de 100 mg/mL.

3. Determinar en qué magnitud el extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. a 100 mg/mL poseerá efecto antimicrobiano en comparación con el fármaco Tetraciclina 30 µg.

1.4 Justificación y viabilidad de la investigación

Desde la prehistoria el ser humano ha venido utilizando plantas con propósitos medicinales (curativos y preventivos), alimenticios y cosméticos. En la actualidad, el uso etnofarmacológico de diversas especies se vuelve la primera fuente de información para el descubrimiento de nuevas sustancias con actividad biológica.(11)

La generalidad de estas prácticas, tal como acontece con los conocimientos empleados en la medicina, debe ser valorada y estudiada críticamente, con mayor razón si pueden llegar a tener una gran conmoción en la salud de los ciudadanos. Finalmente, dichas prácticas recibirán el respaldo que les corresponda o serán rechazadas.(12)

El uso de productos naturales ha aumentado de manera substancial. Esto a raíz de un conjunto de circunstancias, tales como el conocimiento de sus estructuras químicas y el hecho que dichas prácticas se encuentran fundamentadas bajo numerosas pruebas farmacológicas in vitro como in vivo, así como en diversas pruebas químicas. Asimismo, se debe al uso inadecuado de los fármacos antimicrobianos lo que produce como consecuencia la pérdida de actividad de varios de ellos, al desarrollar los microorganismos resistencia frente a los mismos.(13)

Los bactericidas naturales no tienen efecto secundario; en general, no producen reacción alérgica o sensibilidad y son inocuos contra los microorganismos benéficos del organismo, por ejemplo, aquellos que conforman la flora intestinal. En otras palabras, no resultan peligrosos por acumulación y son más fáciles de conseguir.(14)

No caben dudas de que las ventajas de los antibióticos naturales son innumerables. El no generar resistencia bacteriana ya es motivo suficiente para plantearse su empleo regular.(11)

1.5 Delimitación de la investigación

La investigación solo evaluará el efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

Se utilizarán 12 placas de cultivo con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en la que se evaluará el efecto antimicrobiano del *Ficus citrifolia* a una concentración en comparación con un fármaco antimicrobiano de referencia según normativa CLSI (The Clinical & Laboratory Standards Institute) para conseguir resultados con fiabilidad en la investigación; el método a utilizar será el de difusión en disco o también llamado el método de Kirby-Bauer. Se trabajará en ambiente estéril con los equipos de protección adecuados para evitar la contaminación tanto de la muestra como del investigador.

El tiempo de duración de la investigación será de 6 meses.

1.6 Limitación de la investigación

La investigación se realizará utilizando el método de difusión el cual es cualitativo y se desarrolla en base a la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado.(15)

El ensayo no puede determinar cuantitativamente el efecto antimicrobiano debido a que no se utilizarán métodos de dilución tales como: "Dilución en agar, dilución en líquido y bioautografía."(15)

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1 Antecedentes Nacionales

Concha-benavente (2010) en su artículo: “Efecto in vitro del látex de *Ficus insipida* sobre la cascada de la coagulación sanguínea”, tuvo como objetivo comprobar el efecto anticoagulante in vitro y determinar la vía de la coagulación sobre la que actúa el látex de *Ficus insipida*. Se encontró que el látex de *Ficus insipida* prolongó el Tiempo de Protrombina (TP) a una concentración mayor o igual a 0,03125% (V/V), y ambos, el TP y Tiempo de Potrombina activada a una concentración mayor o igual a 0,15% (V/V). Se concluyó que el *Ficus insipida* posee un efecto anticoagulante in vitro dosis dependiente sobre la vía extrínseca de la coagulación sanguínea a una concentración igual o mayor a 0,03125% (V/V) y que a una concentración igual o mayor a 0,15% (V/V) posee un potente efecto anticoagulante sobre ambas vías de la coagulación.(16)

Bravo y Acuña (2015) en su artículo: “Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L.”, determinaron los metabolitos secundarios, así como los tipos de flavonoides, presentes en hojas de *Ficus benjamina* L. provenientes del campus de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Para ello, se realizaron ensayos fitoquímicos que dieron “positivo” para cumarinas, fenoles, azúcares reductores, quinonas, antraquinonas, proteínas, saponinas, grupos funcionales (como cetónicos y aldehídos), flavonoides y anillos aromáticos. En la extracción e identificación de los tipos de flavonoides, se utilizó un extracto de las hojas obtenido a partir de una mezcla de agua: acetoneitrilo: metanol; aplicando la técnica de cromatografía en capa fina, se utilizó como fase estacionaria una placa de aluminio impregnada de sílicagel 60 F254; y como fase móvil, un solvente BAW (n-butanol: ácido acético: agua) en proporción 4:1:5. La placa resultante se reveló en luz UV, mostrando mejor visibilidad de colores utilizando onda larga (358 nm) y se identificó la presencia de flavanonas y flavonas sin 5-OH libre y flavonoles con un 3-OH libre y con/sin 5-OH libre.(17)

Siccha (2015) en su tesis de grado titulada: “Efecto del extracto etanólico de *Ficus carica* (*Moraceae*) sobre la formación de larva 2 de *Ascaris suum* y *Trichuris ovis*, en condiciones de laboratorio”, evaluó el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Ficus carica* “higo” (*Moraceae*), sobre la formación de la larva 2 de *Ascaris suum* y *Trichuris ovis*; para ello, se obtuvo huevos fértiles no embrionados, del útero de hembras grávidas de ambas especies, y se dispensó en Placas de Petri aproximadamente mil huevos por tratamiento experimental conteniendo el extracto diluido a las concentraciones de 4000, 2000 y 1000 ppm y control en solución salina fisiológica. Cada tratamiento se mantuvo a temperatura ambiente (25-26°C) y cada 48 horas se realizó observación microscópica para verificar la formación de las larva 2. A los 20 días, en el control se obtuvo 2.4% de huevos sin larva 2 de *A. suum* y 2.3% de *T. ovis*, y en el experimental la concentración de 4000 ppm tuvo mayor porcentaje de huevos sin larva 2 de *A. suum* y *T. ovis* fue siendo 38.8% y 32.7% respectivamente ($p < 0.05$). Se concluyó que el extracto etanólico de *F. carica*, tiene efecto inhibiendo la formación de la larva 2 de *A. suum* y *T. ovis*, a los 20 días post tratamiento, en condiciones de laboratorio.(18)

2.2.2 Antecedentes Internacionales

Antoun y colaboradores (2001) en su artículo llamado: “Evaluación de la flora de Puerto Rico para actividades antiplasmodiales y antimicobacterianas in vitro”, utilizaron 63 extractos pertenecientes a 30 familias de plantas y 50 especies para probar la actividad antimicrobiana in vitro contra *Mycobacterium tuberculosis*. Se encontró dos extractos activos: *Ficus citrifolia* y *Pisonia borinquena* (85% o más de inhibición del crecimiento microbiano a 100 µg/mL de extracto).(19)

Guevara y colaboradores (2008) en su artículo titulado: “Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de *Ficus religiosa*”, evaluaron el extracto fluido con un 3 % de sólidos totales obtenido de las semillas mediante percolación, utilizando como menstruo alcohol al 30 % y mediante los métodos de difusión en agar y dilución en medio líquido se enfrenta el mencionado extracto a 16 microorganismos que incluyen bacterias, levadura y hongos filamentosos. Se demuestra efecto bacteriostático del extracto en la máxima concentración para

Bacillus subtilis y ausencia de efectividad para los restantes microorganismos probados.(20)

Quesada, Castaño y Bilbao (2009) en su artículo titulado: “Efecto antiparasitario de los extractos etanólicos y etéreos de *Ficus obtusifolia* Kunth (*Moraceae*), frente a parásitos de clase nematodos (*Toxocara cati* y *Toxocara canis*)”, utilizaron los extractos etanólico y etéreo de hojas y frutos de *Ficus obtusifolia* Kunth (*Moraceae*), donde se les evaluó la actividad antiparasitaria contra *Toxocara canis* y *Toxocara cati*, y la antimicrobiana, contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* y *Proteus vulgaris*. Asimismo, se les realizó tamización fitoquímica para determinar algunos metabolitos secundarios y se midió su toxicidad con *Artemia salina*.

El extracto etanólico del fruto mostró mayor mortalidad para parásitos adultos in vivo y presentó mayor inhibición embrionaria en huevos de *T. canis*. Ningún extracto exhibió halo de inhibición en el agar Mueller-Hinton, lo cual indicó que no hubo actividad antimicrobiana. Se observó mayor toxicidad frente a la *A. salina* a las 24 horas, para el extracto etanólico de hojas y frutos.(21)

Kuete y colaboradores (2011) en su artículo titulado: “Actividades antimicrobianas del extracto metanólico, fracciones y compuestos de *Ficus polita* Vahl. (*Moraceae*)”, hicieron un estudio diseñado para evaluar el efecto antimicrobiano del extracto metanólico de la raíz *Ficus polita* (FPR), así como de sus fracciones (FPR1-5), frente a 7 especies bacterianas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25922; *Providencia smartii* ATCC 29916; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 11296; *Salmonella typhi* ATCC 6539; *Escherichia coli* ATCC 8739 y AG100; *Pseudomonas aeruginosa* PA01) y 1 fúngica (*Candida albicans* ATCC 9002). Se utilizó el método de microdilución líquida, los resultados mostraron que el extracto crudo y dos de las fracciones (FPR1, FPR2) fueron capaces de prevenir el crecimiento de las 8 especies. En conclusión, el *Ficus polita* demostró poseer una interesante actividad antimicrobiana.(22)

Othman, Nur y Abu (2012) en su artículo nombrado: “Actividad antimicrobiana del *Ficus deltoidea* Jack (Mas Cotek)”, investigaron acerca del efecto antimicrobiano in vitro de diversos extractos (cloroformo, metanol y acuoso) del *Ficus deltoidea* a concentraciones de 10 mg/mL, 20 mg/mL y 50 mg/mL,

respectivamente. Se utilizó el método de difusión en disco contra 2 bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis* (IMR K-1) y *Staphylococcus aureus* (IMR S-277)), 2 bacterias Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa* (IMR P-84) y *Escherichia coli* (IMR E-940) y una muestra fúngica: *Candida albicans* (IMR C-44). Todos los extractos mostraron actividad inhibitoria frente a la muestra fúngica, los extractos acuoso y cloroformo dieron negativo frente *B. subtilis*, *E. coli*, y *P. aeruginosa*. El extracto metanólico mostró buena actividad antimicrobiana frente a los organismos e inhibió significativamente el crecimiento del *S. aureus* formando un halo de inhibición de 15.67 ± 0.58 mm y una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 3.125 mg/mL.(23)

Corrêa da Cruz y colaboradores (2012) en el artículo titulado: “Actividad antimicobacteriana in vitro y HPLC - Detección DAD de compuestos fenólicos de hojas de *Ficus benjamina* L. y *Ficus luschnathiana* (Miq.)”, publicaron que el extracto de acetato de etilo del *Ficus benjamina* y el extracto butanólico del *Ficus luschnathiana* presentaron actividad antimicrobiana frente al *Mycobacterium smegmatis* (Concentración mínima inhibitoria de 312.50 μ g/mL y 156.25 μ g/mL, respectivamente) utilizando el método de difusión en caldo. (24)

Jain y colaboradores (2013) en su artículo titulado: “Composición fitoquímica y actividad antioxidante del extracto metanólico de hojas de *Ficus benjamina* (Moraceae)”, estudiaron la composición fitoquímica y el potencial antioxidante del *Ficus benjamina*. La actividad antioxidante de los extractos metanólicos de *F. benjamina* se probó mediante los ensayos de eliminación de radicales con 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), actividad antioxidante total, actividad quelante de hierro y ensayo de reducción de potencia. Además de la actividad antioxidante, el extracto también se evaluó para determinar la actividad citotóxica contra el camarón de salmuera. La estimación del contenido fenólico total se realizó mediante el método de reactivo Folin-Ciocalteu y la estimación del contenido total de flavonoides se realizó por el método del cloruro de aluminio. Durante el análisis fitoquímico preliminar, el *F. benjamina* mostró la presencia de carbohidratos, compuestos fenólicos, aceites y grasas, saponinas, flavonoides, alcaloides, proteínas y taninos como principales grupos fitoquímicos. El extracto metanólico de *F. benjamina* exhibió actividad antioxidante significativa los ensayos de eliminación de radicales DPPH, actividad antioxidante total, actividad

quelante de hierro y ensayo de reducción de potencia. El examen fitoquímico del extracto metanólico de *F. benjamina* mostró la presencia de altos niveles de compuestos fenólicos (4.006 mg de equivalencia de ácido gálico / gm) y flavonoides (16.005 mg de equivalentes de ácido de quercetina / gm) que podrían ser responsables de su potencial antioxidante. El extracto también dio como resultado una actividad citotóxica significativa hacia las larvas del camarón de salmuera. Los resultados obtenidos enfatizan la actividad antioxidante de *F. benjamina* y proporcionan la base científica para el uso tradicional en la prevención y terapias de enfermedades.(25)

De las Llagas, Santiago y Ramos (2014) en su artículo: “Actividad antibacteriana del extracto etanólico crudo y fracciones solventes de hojas de *Ficus pseudopalma*”, pusieron a prueba el efecto antimicrobiano de las fracciones cloroformo, acuosa y de acetato de etilo las cuales se evaluaron a través del método de Kirby-Bauer (difusión en disco) y la concentración mínima inhibitoria. Se utilizaron bacterias Gram positivas como Gram negativas. Los resultados fueron que los fragmentos cloroformo y acetato de etilo mostraron efecto antimicrobiano contra *Bacillus subtilis* UST CMS 1011 con halos de inhibición de 14 a 19 milímetros, también mostraron parcial efecto antimicrobiano (10 a 13 milímetros) hacia *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. El extracto acuoso no presentó halos de inhibición mientras que los 3 extractos no presentaron inhibición en el desarrollo de las bacterias Gram negativas. De este estudio se puede concluir que el extracto de *F. pseudopalma* puede tener efecto antimicrobiano frente a bacterias Gram positivas. (26)

Nwankwo y Ukaegbu (2014) en su artículo: “Examen fitoquímico preliminar y actividad antibacteriana de dos plantas medicinales nigerianas (*Ficus asperifolia* y *Terminalis catappa*)”, desarrollaron la investigación acerca de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólico y acuoso del *Ficus asperifolia in vitro* versus bacterias Gram positivas (*S. pneumoniae* y *S. aureus*) como Gram negativas (*E.coli*, *P.aeruginosa* y *P.mirabilis*) utilizando el método de difusión en disco. Todos los extractos evidenciaron halos de inhibición salvo el extracto acuoso que no demostró la capacidad de inhibir el crecimiento de *P. aeruginosa*. Se concluyó que la actividad antimicrobiana podría deberse a compuestos

bioactivos encontrados en el screening fitoquímico tales como flavonoides, saponinas, taninos, glicósidos y alcaloides.(27)

Mahmoudi y colaboradores (2016) en su artículo: “Compuestos fenólicos y flavonoides, actividades antioxidantes y antimicrobianas de extractos foliares de diez variedades argelinas de *Ficus carica* L.”, realizaron una investigación para comprobar el efecto antimicrobiano del extracto de las hojas del *Ficus carica*. El ensayo se realizó utilizando el método de difusión por disco. Como conclusión se llegó a que el *S. aureus* ATCC 6538 fue la bacteria más sensible a este extracto.(28)

Kiruthiga y Sivaraman (2016) en su artículo llamado: “Evaluación del potencial anticancerígeno de las hierbas medicinales indias *Morinda tinctoria* y *Ficus hispida*”, evaluaron la actividad anticancerígena del extracto combinado de *Morinda tinctoria* y *Ficus hispida* contra la línea celular HeLa usando el modelo de ensayo MTT (El cual se fundamenta en la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol). El ensayo de citotoxicidad in vitro para los extractos combinados se realizó utilizando la línea celular HeLa mediante el método de ensayo MTT. El resultado mostró que ninguna de las células viables disminuía con el aumento en la concentración de dosis del extracto combinado, lo cual confirmó el potencial anticancerígeno y citotóxico de los extractos.(29)

Mbosso y colaboradores (2016) en su artículo: “Actividades antimicrobianas y antiproliferativas in vitro de extractos de plantas de *Spathodea campanulata*, *Ficus bubu* y *Carica papaya*”, utilizaron el método de difusión en disco; el efecto antimicrobiano del extracto metanólico de la corteza y hojas del *Ficus bubu* fue determinado frente a un grupo de bacterias y hongos: *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *S. epidermididis*, *S. saprophyticus*, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* y *Trichophyton rubrum*. Las concentraciones de los extractos variaron desde 2500.0 a 2.4 µg/mL y los valores de concentración mínima inhibitoria fueron evaluados después de 24 horas de incubación a 37 °C. Subsecuentemente, se realizó el ensayo MTT para estimar la actividad antiproliferativa del extracto metanólico y del látex de la corteza del *Ficus bubu* frente a 3 líneas celulares cancerígenas (U373 glioblastoma, A549 NSCLC y SKMEL-28 melanoma). Los

resultados indicaron que el extracto metánolico de la corteza del *Ficus bubu* exhibieron la mayor inhibición frente a *C. albicans* (MIC= 9.8 mg/mL), mientras que el extracto metanólico de las hojas y el látex del *F. bubu* indujeron significativa actividad antiproliferativa frente a células cancerígenas del pulmón (Poseyendo una concentración media inhibitoria (IC₅₀) de 10 y 14 mg/mL, respectivamente) y de glioma (Con una concentración media inhibitoria (IC₅₀) 13 y 16 mg/mL, respectivamente).(30)

Keumoe y colaboradores (2016) en el artículo: “Actividad antimicobacteriana de las plantas medicinales contra el agente causante de la úlcera de Buruli: *Mycobacterium ulcerans*”, pusieron a prueba las especies *Ficus benjamina*, *Ficus elastica*, *Ficus saussureana* frente al *M. ulcerans*, obteniéndose como resultado una prometedora actividad antimicrobiana con una concentración mínima inhibitoria que varió de 62.5 µg/mL a 250 µg/mL. El screening fitoquímico comprobó la existencia de fenoles, taninos, triterpenos, saponinas, flavonoides y glucósidos. (31)

2.2. Bases Teóricas

2.2.1 Descripción de la especie

Nombres vulgares

El nombre común de esta especie botánica varía dependiendo de su localización. En la provincia de Loja (Ecuador) se le conoce como higerón.(32) En Puerto Rico, se llama a esta especie como jagüey blanco(33), mientras que en México lleva diferentes nombres tales como camichin, amate prieto, matapalo chalata, y tescalamilla.(34) En Argentina se le denomina higerilla; así mismo, en Paraguay es conocida como guapo'y (35); y en Panamá es llamada saguagua, suu o tuu.(36) En el Perú, más específicamente en Ucayali, se le conoce como renaco.(37)

Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rosales

Familia: Moraceae

Género: *Ficus*

Especie: *Ficus citrifolia* Mill.

Nombre común: Renaco, estrangulador.

Características y Hábitat

Árbol hemiepifítico, rupícola o estrangulador, de 4 a 20 metros. **Corteza** grisácea o pardo verde, con exudado blanquecino, medianamente exuberante, espeso. **Yema** foliar terminal de 7 a 12 de longitud x 1 a 4 milímetros en la base, negra o pardo oscura, lisa. **Entrenudos** lisos, con secreción acuosa, moderadamente abundante, no viscoso. **Lámina foliar** de 7.5 a 22 x 3 a 11.5 centímetros, 1.3 a 2.3 veces más larga que ancha, elíptica u ovada, coriácea, base sutilmente truncada a obtusa, ápice cuspidado, con un acumen de 4 a 11 milímetros de longitud, comúnmente un poco recurvado, haz y envés, 8 a 14 duplos de venas laterales, inclinadas 60 a 70° con respecto a la costa, regularmente conspicuas; **pecíolo** de 13 a 92 x 0.7 a 2 milímetros, provisto de surcos por el haz, sin pelos. **Siconos** con pedúnculo de 4 a 17 x 1 a 2 milímetros, rollizo, pardo, liso; **brácteas basales** inconspicuas a levemente conspicuas, 1.5 a 3 x 1.7 a 3 milímetros, deltoides, ápice agudo o redondeado, lisas, pardas, persistentes; **ostiolo** 2 a 4 x 2 a 4 milímetros, circular, negro o pardo oscuro, aplanado a ligeramente convexo, en oportunidades con un anillo medianamente grueso; **sicono** de 5 a 19 x 5 a 19 milímetros, esférico u obloide y ordinariamente con el ápice aplanado, verde en fresco (fases A-E), pardo amarillo a pardo oscuro al secar, liso o verrugoso, lampiño, pared del higo de 0.1 a 0.2 milímetros de grosor.

Se le puede encontrar en Florida (Estados Unidos de América), en los estados mexicanos de Chiapas, Oaxaca, Colima, Campeche, Nayarit, Michoacán, Guerrero, Yucatán, Tabasco, Jalisco y Quintana Roo. En algunas partes de América Central (Desde Belice y Guatemala hasta llegar a Panamá).

En Sudamérica se le puede hallar desde Colombia hasta el norte de Paraguay y Argentina. También se le puede encontrar en países pertenecientes a las Antillas mayores tales como: Jamaica, Haití, República Dominicana, Puerto Rico, Cuba, Trinidad y Tobago y en ciertos países pertenecientes las Antillas menores, por ejemplo: Barbados, Curazao, Dominica, entre otros.(34)

En Perú se halla en los departamentos de Tumbes, Loreto, Pasco, Madre de Dios y Ucayali.(37)

Usos

Varias son las especies del género *Ficus* utilizadas en la medicina tradicional en varias partes del mundo, ya que se han reconocido empíricamente propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, analgésicas y otras.(38) El látex que presentan todas las especies de esta familia tiene propiedades antihelmínticas, es decir, propiedades para tratar infecciones por gusanos intestinales.(39)

En Australia se utilizan infusiones de raspados de la corteza interna del *Ficus racemosa* en el tratamiento de la diarrea, mientras que en la India, la sabia blanca ha sido utilizada para tratar infecciones en heridas pequeñas e incluso para tratar la gonorrea.(40)

En Guerrero (México), se le utiliza como sombra para el cultivo de café.(34) En las Bahamas se le utiliza contra el cáncer, problemas gastrointestinales y circulatorios, así como enfermedades dermatológicas y algunos tipos de dolor mientras que en Costa Rica, se ha empleado en infecciones, en llagas, como masticatorio y vermífugo.(38) En ciertos pueblos indígenas de Panamá se utiliza la corteza de esta especie para el tratamiento de heridas.(41)

En el Perú se utiliza el látex vía tópica para tratar heridas e infecciones; además, el látex también es usado vía oral como antihelmíntico.(42)

2.2.2 Metabolitos secundarios con efecto antimicrobiano extraídos del género *Ficus*.

En el 2009 se extrajeron 8 compuestos (Figura 1) del *Ficus ovata* los cuales fueron los terpenoides: Friedelina, acetato de taraxerilo, ácido betunílico, ácido oleanoico; isoflavonoides identificados como 2'-hidroxiisoprunitina; 6,7-(2-isopropenil furo)-5,2',4'-trihidroxiisoflavona, cajanina y ácido protocateuico, los cuales presentaron en su totalidad actividad antimicrobiana y antifúngica, convirtiéndose en potenciales fuentes de nuevos fármacos.(43)

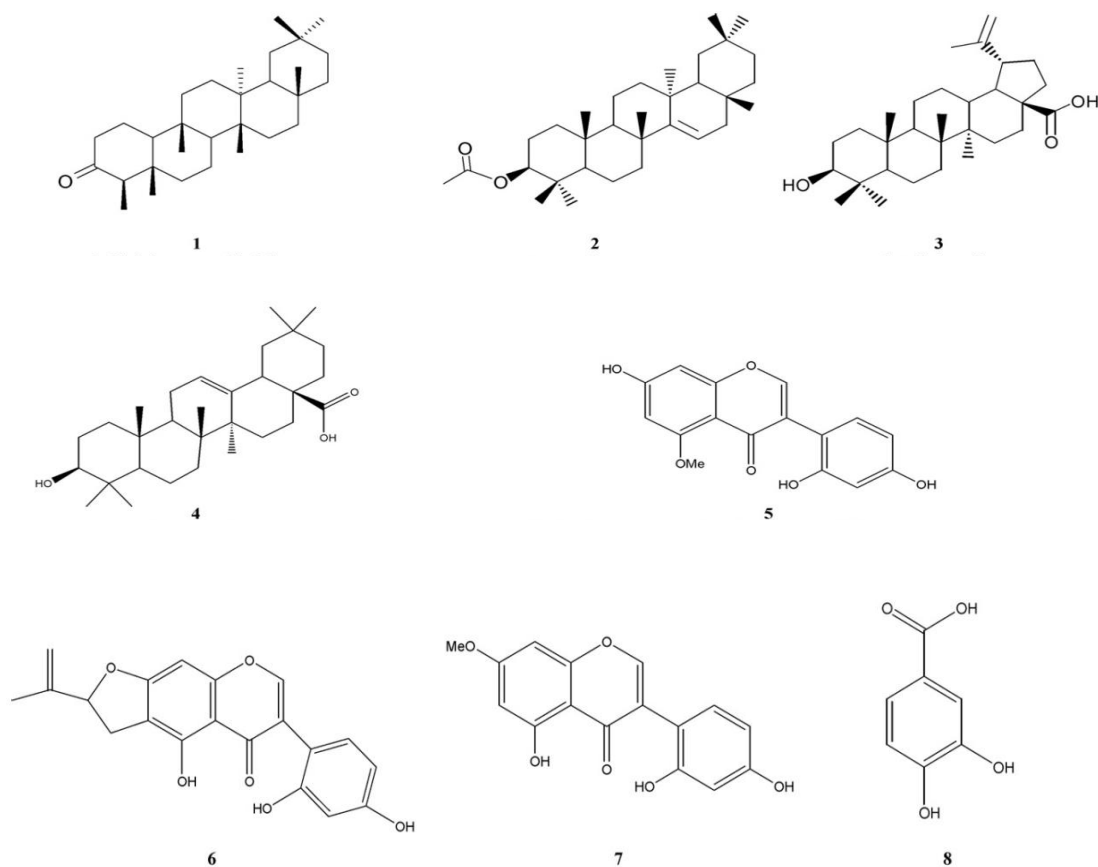


Figura 1. (1) Friedelina, (2) Acetato de taraxerilo, (3) Ácido betunílico, (4) Ácido oleanoico; (5) 2'-hidroxiisoprunitina; (6) 6,7-(2-isopropenil furo)-5,2',4'-trihidroxiisoflavona, (7) cajanina y (8) ácido protocateuico

Se publicó el aislamiento y actividad antimicrobiana, en el año 2011, de una nueva glicosilceramida nombrada por los autores como lutaósido (Figura 2). También se publicó la caracterización y aislamiento de tres triterpenoides con esqueletos oleanano y lupano, un acetil triterpenoide con esqueleto oleanano y

un glicosilesteroido tipo estigmastano a partir de madera de *Ficus lutea* proveniente de Camerún.(44)

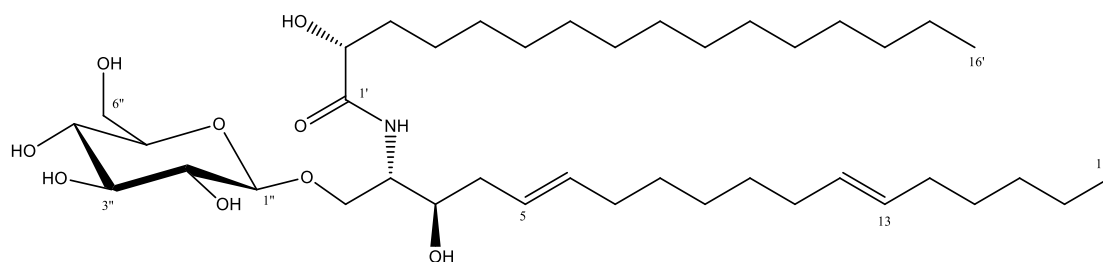


Figura 2. Lutaósido

En el 2012 en un estudio del *Ficus exasperata* se aisló por primera vez un esfingolípido al que los autores nombraron “Ficusamida” así mismo, se aislaron furanocumarinas: (S)-(-) Hidrato de oxipeucedanina, (R)-(+ Hidrato de oxipeucedanina (Figura 3). La ficusamida demostró leve actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* mientras que los enantiómeros mostraron una significativa actividad antimicrobiana contra *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans* y *Microsporium audouinii*.(45)

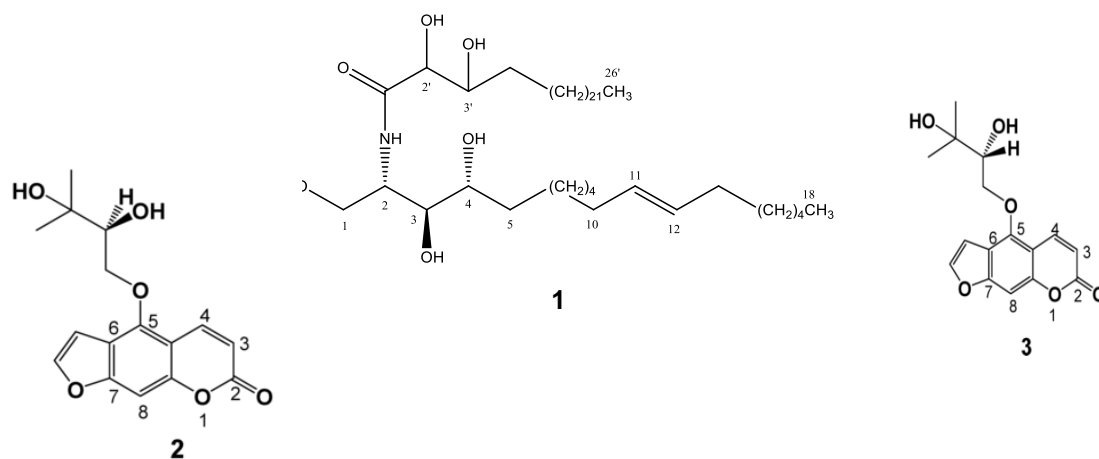


Figura 3. (1), Ficusamida; (2), (S)-(-) Hidrato de oxipeucedanina; (3), (R)-(+ Hidrato de oxipeucedanina

En el 2014, se aislaron 3 triterpenos y 3 flavonoides del *Ficus sansibarica*: acetato de lupeol; cicloart-23-en-3,25-diol; β -sitosterol; 5,7,4'-trihidroxiflavan-3-ol; epicatequina e isovitexina. La actividad antimicrobiana de estos compuestos

fue puesta a prueba, siendo los compuestos de acetato de lupeol; cicloart-23-en-3,25-diol; β -sitosterol y epicatequina los que presentaron actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*. Así mismo, en ensayo de biopelícula, los compuestos 5, 7, 4'-trihidroxi flavan-3-ol e isovitexina disminuyeron la adhesión del *S. aureus* sensible a la meticilina. El desenlace de esta investigación indicó que el *Ficus sansibarica* posee potencial actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas.(46)

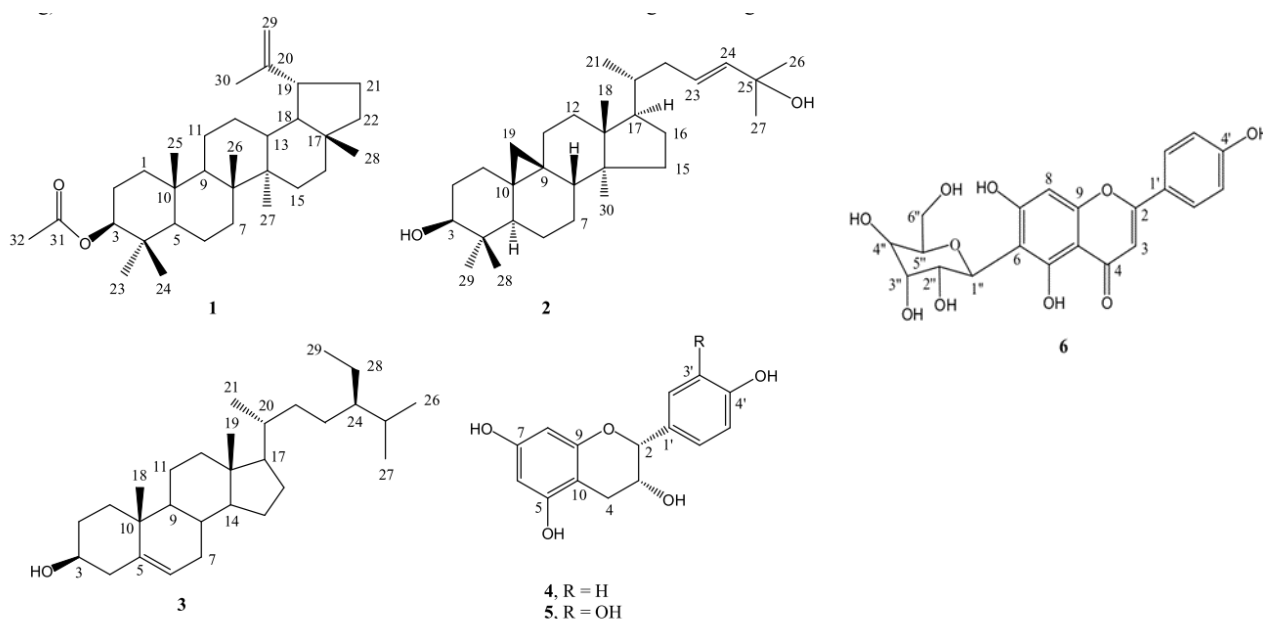


Figura 4. (1) Acetato de lupeol; (2) cicloart-23-en-3,25-diol; (3) β -sitosterol; (4) 5,7,4'-trihidroxi flavan-3-ol R=H; (5) epicatequina R=OH e (6) isovitexina.

En una investigación publicada en el 2017, se aislaron 4 compuestos de las hojas del *Ficus palmata* los cuales son: catequina, genisteina, β -sitosterol y estigmasterol. Dichos compuestos llegaron a presentar actividad antimicrobiana frente a cepas de: *Salmonella entericatyphim*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*.(47)

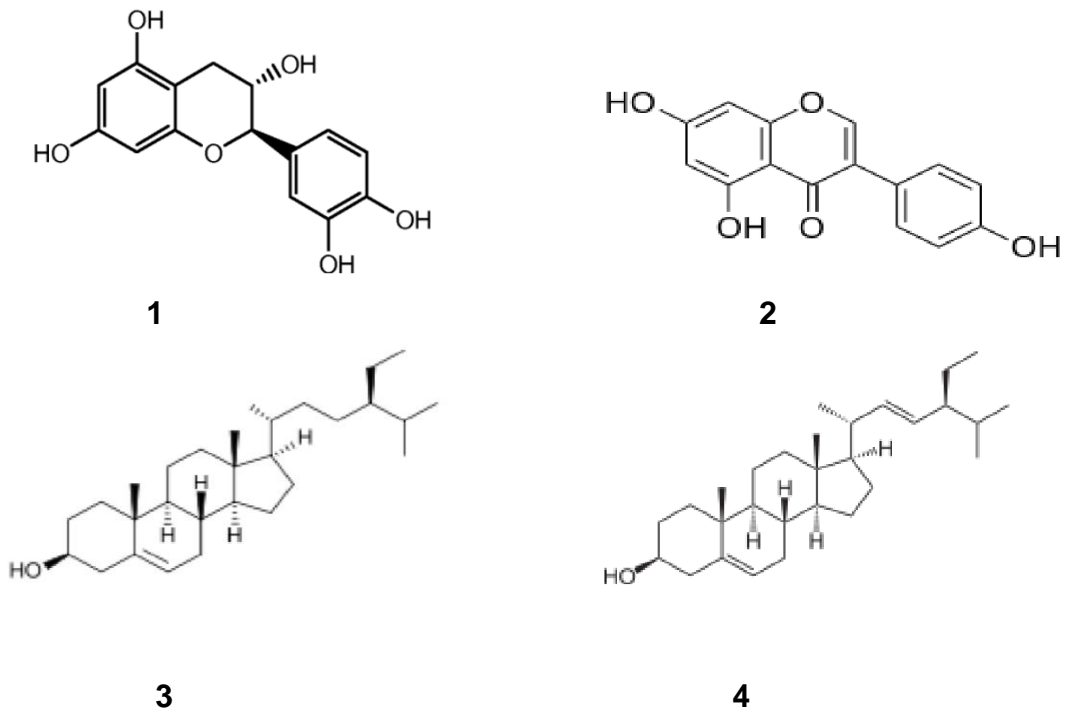


Figura 5. (1), Catequina, (2) Genisteina, (3) β -Sitosterol, (4) Estigmasterol

2.2.3 Extracción

Es la desunión de una combinación de sustancias por disolución de cada uno de sus componentes con la ayuda de uno o varios disolventes. Por lo general, se obtienen como mínimo dos constituyentes: la solución con las sustancias disueltas (extracto) y un remanente.(48)

2.2.4 Métodos de Extracción

Existen varios métodos para la extracción los metabolitos de una planta, los mismos que necesitan la ayuda de un líquido extractivo. (49) Estos deben estar relacionados al conocimiento de la naturaleza química de los componentes de interés existentes en el vegetal y al fin de la investigación.(50)

Se pueden clasificar de 2 tipos:

- Extracción líquido-líquido (L/L).
- Extracción sólido-líquido (S/L).

En el caso de la extracción de compuestos fitoquímicos, a partir de materiales vegetales, debido a la naturaleza de estos materiales el método más empleado es el de extracción sólido-líquido.(51)

2.2.5 Tipos de Extracción con solventes

2.2.5.1 Extracción discontinua.

a) Maceración: En un recipiente se adiciona la droga más el solvente, esta combinación debe agitarse aproximadamente tres veces al día y debe estar protegida de la luz con el fin de evitar posibles reacciones; las distintas Farmacopeas describen duraciones que pueden variar entre cuatro y diez días, por lo que el tiempo total de maceración es diverso.(52)

b) Decocción: Consiste en hervir las sustancias con principios medicinales en agua para extraer sus compuestos solubles.(53)

c) Digestión: Es una especie maceración que se realiza a una temperatura que oscila alrededor de los 50 o 60° C". A mayor temperatura se consigue una mejor extracción debido a que disminuye la viscosidad del solvente lo que hace pueda extraer los principios activos con mayor rapidez.(52) Si el solvente es volátil, se puede adaptar, al balón, un condensador para poder utilizar de manera continua el solvente.(54)

d) Infusión: Se logra por el contacto entre las hojas y agua a una adecuada temperatura. Lo beneficioso de este método es que los componentes no corren riesgo de desnaturalización. Para un mayor tiempo de contacto entre solvente y muestra se puede utilizar una corriente de reflujo. (55)

2.2.5.2 Extracción Continua

a) Percolación: A partir del año 1840 este método es aceptado por la Farmacopea de los Estados Unidos.(56) Este método se basa en que el menstruo (alcohólico o hidroalcohólico) atraviese una masa pulverizada de droga yendo unidireccionalmente, de este modo alcanzará concentraciones crecientes y el equilibrio (dentro y fuera del marco) nunca se alcanzará, teniendo como consecuencia que la muestra a estudiar será bañada por nuevas proporciones del disolvente y, de manera progresiva, acabará por ceder todos sus componentes solubles.(52)

b) Extracción por Soxhlet: El equipo Soxhlet utiliza un sifón como ayuda para poder recircular los vapores condensados al origen del disolvente, el cual se

encuentra en una cíclica evaporación impulsando a los principios activos de la muestra que se encuentra en el cartucho desechable.(57) Esta extracción tiene diferentes etapas: 1) El solvente debe ser colocado en un balón 2) dicho solvente es llevado a ebullición para su evaporización hasta un condensador a reflujo 3) el recipiente cuyo contenido es el cartucho con la planta en su interior es bañado por el condensado 4) el nivel del solvente asciende cubriendo el cartucho hasta producir el reflujo 5) se repite el proceso hasta agotar la muestra. El extracto va concentrándose en el balón con solvente.(58)

2.2.6 Extractos

Se obtienen después de la evaporación total o parcial del disolvente que contiene la muestra de origen vegetal. Son concentrados derivados generalmente del material vegetal desecado que pueden ser de consistencia sólida, líquida o intermedia.(51)

2.2.7 Tipos de Extractos

a) Extractos secos: Son fácilmente pulverizables y tienen consistencia seca, se obtienen al evaporar completamente el disolvente y desecar el residuo. La humedad de estos extractos no es mayor al 5%. Son preparados de alta estabilidad que contienen una concentración elevada de principio activo comparado con la droga original.(59)

b) Extractos Fluidos: Son extractos de drogas que están preparados de forma que una parte de la droga corresponda a una parte o dos del extracto, por ejemplo: que 85 partes de la droga seca corresponda a 100 partes de la planta. Estos extractos, por lo general, se obtienen por percolación.(52)

c) Extractos blandos: Tienen una consistencia parecida a una miel espesa; en algunas ocasiones, como consecuencia de la absorción de la humedad atmosférica, son menos densos. (60) No se suelen utilizar debido a su dificultad en la manipulación y su poca estabilidad.(59)

e) Críoextractos: Se necesita congelación de la droga y se utiliza nitrógeno líquido y posteriormente alcohol etílico para extraer los principios activos. Son muy costosos; sin embargo, facilitan la extracción de proteínas y algunas enzimas. (61)

2.2.8 Agentes Antimicrobianos

Los agentes antimicrobianos contribuyen en la disminución de la mortalidad y en evitar la propagación de enfermedades infecciosas.(62) Estos constituyen un grupo grande de compuestos con estructuras diversas y miles de mecanismos de acción contra bacterias, virus, hongos y parásitos. (63)

Se clasifican según criterios de estructura: azoles, polienos, entre otros; por su origen: provenientes de seres vivos o productos de una elaboración química; según su espectro en: restringido o amplio y conforme al sitio donde actúan.(64)

2.2.8.1 Antibacterianos de Comparación

Tetraciclina: Las tetraciclinas constituyen un grupo de antibióticos derivados en un principio de *Streptomyces*. Terminaron por ser conocidas como antibióticos de “amplio espectro”, por su actividad contra *Rickettsia*, bacterias grampositivas y gramnegativas aerobias y anaerobias y *Chlamydia*.

Al unirse al ribosoma 30S las tetraciclinas inhiben la síntesis de proteínas bacterianas y así impiden el acceso del aminoacil tRNA al sitio aceptor (A) en el complejo de ribosoma-mRNA.

Debido a la difusión pasiva, los fármacos son capaces de penetrar en las bacterias Gram negativas atravesando sus conductos hidrófilos formados por las porinas (proteínas de membrana externa) y por transporte activo, gracias a un sistema dependiente de energía, todas las tetraciclinas son bombeadas a través de la membrana citoplásmica. Para las bacterias Gram positivas es necesario el uso de energía metabólica para la penetración de estos fármacos, lastimosamente no se tienen suficientes datos sobre tal proceso.(63)

2.2.9 Descripción de la bacteria en estudio

2.2.9.1 *Staphylococcus aureus*

Pertenece al grupo Gram positivo conformado por cocos cuyo diámetro varía entre 0.5 a 1.5 μm , los cuales se pueden observar como células únicas o por lo general se agrupan en pares, tétradas, cadenas cortas o incluso llegando a formar racimos de uvas. Este tipo de bacterias no presentan cápsula (aunque

algunas desarrollan cápsula de limo), no son esporuladas, no tienen movilidad y son anaerobias facultativas.

La mayoría de bacterias de este grupo elaboran catalasa (enzima capaz de separar el peróxido de hidrógeno y convertirlo en oxígeno y agua); esta característica permite reconocer al género *Staphylococcus* sobre los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*, los cuales no pueden producir este desdoblamiento (catalasa negativos).(65)

Sus colonias llegan a medir de 1 a 3 milímetros y suelen producir un pigmento amarillento ya que poseen carotenoides; muchas de estas cepas se hemolizan entre las 24-36 horas.(66) Su crecimiento adecuado ocurre a una temperatura de 37°C con un pH ligeramente alcalino de 7.6, el crecimiento es más favorable en presencia de glucosa.(50)

Se le considera un perfecto patógeno, esto es debido a que posee una gran variedad de factores de virulencia; está provisto para colonizar, irrumpir y diseminarse; estos elementos son causa, en parte, de la amplia gama de manifestaciones clínicas que llega a causar. Este género es capaz de adquirir, por transferencia horizontal, elementos exógenos; esto conlleva a que pueda adaptarse con facilidad al medio que lo rodea y se vuelva resistente frente a los antimicrobianos mediante la obtención de constituyentes de defensa codificados por secuencias de inserción, plásmidos y transposones.(67) A lo largo del tiempo, las infecciones provocadas por este género han tenido una gran marca en la morbimortalidad tanto hospitalaria como poblacional.(68)

Esta bacteria causa una amplia variedad de enfermedades infecciosas tales como infecciones cutáneas, septicemia, neumonía e intoxicación alimentaria, entre otras.(69)

2.3. Formulación de hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

- El extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. posee efecto antimicrobiano *in vitro* frente a las cepas *Staphylococcus aureus*.

2.3.2. Hipótesis específica

- El extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. posee metabolitos secundarios con efecto antimicrobiano.
- El extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. posee efecto antimicrobiano a una concentración de 100 mg/mL.
- El extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. a 100 mg/mL posee efecto antimicrobiano en magnitud comparable con el fármaco Tetraciclina 30µg.

2.4 Operacionalización de variables e indicadores

- **Variable Independiente:** Extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. a una concentración de 100 mg/mL.
- **Variable Dependiente:** Efecto antimicrobiano en cepas de *Staphylococcus aureus*.

Tabla 1. Operacionalización de las variables

Operacionalización de las variables		
Variable Independiente	Dimensión	Indicador
Extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. a una concentración de 100 mg/mL.	Fitoquímico	Identificación de grupos de metabolitos secundarios.
Variable Dependiente	Dimensión	Indicador
Efecto antimicrobiano en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Microbiológico	Medición de los halos de inhibición (mm).

2.5 Definición de términos básicos

- **Agar:** Elemento solidificante muy empleado para la preparación de medios de cultivo.(70)
- **Agente Antimicrobiano:** Sustancia química que mata o inhibe el crecimiento de microorganismos. (71)
- **Antimicrobiano:** Nocivo para los microorganismos por matar o inhibir su crecimiento.(71)

- **Droga Vegetal:** Parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica.(72)
- **Extracto:** Concentrado obtenido por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua, etanol o éter, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca.(73)
- **Fármaco:** Cualquier sustancia químicamente definida que, aplicada sobre una estructura u organismo vivo, produce una respuesta objetivable, es decir, cuantificable y reproducible.(74)
- **Infección:** Es la contaminación, con respuesta inmunológica y daño estructural del huésped, causada por un microorganismo patógeno.(75)
- **Látex:** Es una emulsión pegajosa que se exuda por el daño de los canales especializados en alrededor del 10% de las especies de plantas con flores. El látex no tiene función metabólica primaria conocida y ha estado fuertemente implicado en la defensa contra insectos herbívoros.(76)
- **Medicina tradicional:** Conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales.(49)
- **Medio de cultivo:** Material alimenticio en el que crecen los microorganismos. (70)
- **Metabolito Primario:** Son compuestos orgánicos esenciales, producidos por las plantas, para su crecimiento, desarrollo y reproducción.(77)
- **Metabolito Secundario:** Son compuestos derivados del metabolismo primario, pero de limitada distribución en el reino de las plantas. no tienen una función aparente en el metabolismo primario, pero sí tienen una implicación ecológica como defensa contra herbívoros, virus, hongos, bacterias. Otros tienen una función fisiológica, por ejemplo, los alcaloides, las pectinas que pueden servir para el transporte de nitrógeno tóxico y compuestos de almacenamiento, mientras los compuestos fenólicos como los flavonoides realizan una función como protectores de rayos

ultravioletas. Además, son una fuente importante de principios activos de medicamentos y de valiosos productos químicos. (78)

- **Multirresistencia:** Ausencia de sensibilidad a, por lo menos, un fármaco en tres o más de las categorías de antibióticos.(79)
- **Producto Natural:** Se refiere generalmente a los metabolitos secundarios, con real o potencial utilidad para el hombre y/o para la adaptación de la planta al medio ambiente.(80)
- **Resistencia Bacteriana:** Mecanismo mediante el cual la bacteria puede disminuir la acción de los agentes antimicrobianos.(81)
- **Resistencia extrema:** Se refiere a la ausencia de sensibilidad a, por lo menos, un agente en todas las categorías de antimicrobianos excepto en dos de ellas o menos.(79)

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo de Investigación

El tipo de la investigación es experimental debido a que se manipula la variable en condiciones rigurosamente controladas buscando describir la posible relación entre causa y efecto. Es transversal debido a que se hace la medición en un momento determinado y prospectivo debido a que los hechos ocurridos en el estudio son estudiados después del comienzo de la investigación.

3.2. Diseño de la investigación

El diseño de la investigación es experimento puro debido a que se manipula la variable independiente (extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. a una concentración de 100mg/mL) y se mide su efecto sobre la variable dependiente (efecto antimicrobiano en cepas de *Staphylococcus aureus*). Asimismo, se utilizará grupos control para observar que la variación de la variable dependiente no se deba a otras causas.

3.2.1 Preparación de la muestra

La corteza del *Ficus citrifolia* Mill. fue recolectada en el distrito de Pebas, provincia de Mariscal Ramón Castilla, región Loreto en forma de lonjas con un peso de 4,2 kg. En el laboratorio de Farmacognosia, de la facultad, se procedió a limpiar, seleccionar y trozar la muestra para mejorar el proceso de secado, el cual se realizó colocando los trozos del *Ficus citrifolia* en la estufa a una temperatura de 50°C durante una semana.

Una vez seca, la muestra se llevó a molienda utilizando un molino automático de cuchillas, hasta volverla aserrín en el laboratorio de investigación de la Universidad Mayor de San Marcos, obteniendo como peso final 1,5 kg.

3.2.2 Obtención del extracto crudo hidroalcohólico

El extracto crudo se obtuvo por maceración de la corteza seca molida del *Ficus citrifolia* Mill. (1,5 kg) en 16 litros de etanol-agua al 80% durante 3 semanas renovando el solvente cada semana y con homogenización mecánica diaria. Al término de la extracción se filtró la solución etanólica acuosa y se concentró a presión reducida utilizando el rotavapor Heidolph Laborota 4000. Posteriormente, se dividió el extracto concentrado en placas Petri y se evaporó las trazas de disolvente en estufa a 40°C, obteniéndose así un total de 88.82 g de extracto puro.

3.2.3 Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico

En metanol

Se realizó una dispersión de 0,5 g del extracto concentrado con 50 mL de metanol (MeOH), posteriormente se decantó y vertió 2 mL de la solución decantada en 12 tubos de ensayo para realizar el tamizaje fitoquímico correspondiente.(82)

En agua

Se realizó una dispersión de 0.5g del extracto crudo en 30 mL de agua (H₂O), posteriormente se decantó y vertió 2 mL de la solución decantada en 10 tubos de ensayo para realizar el tamizaje fitoquímico correspondiente.(82)

En agua acidificada

Se tomó 5 mL de la solución acuosa y se acidificó con 5 mL de ácido clorhídrico (HCl) 5%, se distribuyó en 5 tubos de ensayo con 2 mL cada uno para realizar el tamizaje fitoquímico correspondiente.(82)

3.2.4 Efecto Antimicrobiano

Se reactivó la cepa ATCC sembrándola en agar sangre de cordero soya-tripticosa incubándola a 35°C durante 24 horas.

Después se utilizó el asa de siembra para transferir cada colonia a estudiar al caldo nutritivo y se incubó a una temperatura de 35°C durante 24 horas hasta que alcanzó el nivel de turbidez adecuado según la escala de Mc Farland.(83)

Una vez comparado el nivel de turbidez con el estándar de Mc Farland se procedió a realizar la siembra de la especie microbiana en el agar no selectivo Mueller Hinton estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.(83)

Se dejaron secar las placas de 3 a 5 minutos a temperatura ambiente para eliminar el exceso de humedad y posteriormente se colocaron los discos de papel filtro de 6 mm de diámetro previamente esterilizados.(83)

Se utilizó el fármaco antimicrobiano Tetraciclina como control positivo y dimetilsulfóxido (2.5% v/v)(84) como control negativo. Así mismo, se utilizó el extracto concentrado de *Ficus citrifolia* a una concentración 100 mg/mL.(26)

Estos discos se colocaron con la ayuda de una pinza estéril, se aseguró que queden bien firmes dentro de la placa a estudiar. Pasados 15 minutos de la colocación de los discos se llevaron a incubar las placas en posición invertida durante 24 horas a temperatura de 35° C. Finalmente, se midieron los diámetros de los halos de inhibición.(83)

3.3 Población y muestra de la investigación

3.3.1 Población vegetal: 10 Árboles de *Ficus citrifolia* Mill. pertenecientes al distrito de Pebas, provincia de Mariscal Ramón Castilla, región Loreto, recolectados en un área de 20m².

3.3.2 Muestra vegetal: Estuvo constituida por 4,2kg de lonjas de corteza del *Ficus citrifolia* Mill.

3.3.3 Población microbiana: 01 KWIK-STIK™ de *Staphylococcus aureus* subsp. aureus derivado desde ATCC® 25923™

3.3.4 Muestra microbiana: Cultivo de las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en 12 placas con agar Mueller Hinton.

3.4 Técnica e instrumento de recolección de datos:

3.4.1 Técnica de recolección de datos

Para la recolección de datos se utilizó la técnica de observación estructurada no participante individual en el laboratorio. Se realizó la evaluación pre-clínica de las unidades de análisis que conforman la muestra de estudio; los datos obtenidos fueron registrados en el instrumento de investigación.

3.4.2 Instrumento de recolección de datos

El instrumento de recolección de datos empleado en la presente investigación fue una ficha de observación ad-hoc, elaborada para registrar el diámetro de los halos inhibición en milímetros (mm) para 12 placas con agar Muller-Hinton conteniendo cada una de ellas 3 discos:

Control negativo: DMSO (2.5% v/v).

Control Positivo: Tetraciclina (30µg).

Muestra Problema: Extracto etanólico de *Ficus citrifolia* 100 mg/mL.

La mencionada ficha fue aplicada únicamente por el investigador, todas las mediciones fueron llevadas a cabo bajo las mismas circunstancias.

3.4.3 Validación de instrumento

El instrumento que se empleó al ser una ficha Ad-Hoc requirió de validación previa a su aplicación final, la cual se estableció en base a la determinación de su viabilidad, confiabilidad y validez.

La viabilidad del instrumento se alcanzó en base a su sencillez, ya que, al constar de solo una cara, y de no requerir procedimientos complejos, la recolección de datos no supuso esfuerzos excesivos por parte del investigador.

La consistencia interna de la confiabilidad del instrumento se evaluó por medio del análisis Alfa de Cronbach para variables politómicas en las mediciones de la última aplicación del instrumento. Con los resultados obtenidos, se estableció la consistencia interna del instrumento al superar el margen mínimo de 0.10.

La validez total del instrumento se estableció a cuatro niveles; a nivel lógico los reactivos del instrumento se consideraron válidos ya que su construcción sigue una secuencia ordenada y una comprensión gramatical adecuada; la validez de contenido se obtuvo mediante la evaluación por juicio de 3 expertos, quienes fueron:

- Herrera Hernández, Nora
- Vilchez Cáceda, Héctor
- Jacinto Hervias, Pedro

Los jueces calificaron las características del instrumento por medio de una ficha de validación por expertos (Ver Anexo 7), para lo que se le entregó a cada uno la matriz de consistencia interna del estudio (Ver Anexo 1); A nivel de constructo, la validez fue establecida debido a que se alcanzó previamente validez lógica de contenido.

3.5 Técnicas para el procesamiento de datos:

Posterior a la recolección de datos se procedió a organizar las fichas de recolección y a enumerarlas para ser ingresadas a la base de datos en Microsoft Excel en su versión de acceso, bajo las codificaciones planteadas por el investigador.

El procesado de los datos se llevará a cabo en una laptop de marca MSi, modelo GE62 6QC APACHE, de 16GB de memoria RAM con sistema operativo Windows 10.

La información recolectada fue analizada con el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Science) en su versión de acceso; en la cual se llevó a cabo la aplicación de estadística descriptiva para establecer la distribución de los datos recolectados a través de medidas de tendencia central, dispersión, forma y posición. También se utilizó estadística inferencial para la docimasia de las hipótesis de la investigación, la cual se llevará a cabo mediante la realización de la prueba estadística T de Student para muestras independientes.

Tanto los resultados de las pruebas estadísticas descriptivas como inferenciales están expresadas mediante tablas y gráficos.

Los resultados muestrales están inferidos a la población mediante estimación por intervalo a un 95% de confianza.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Resultados del tamizaje fitoquímico

En las tablas 2 a 4 se muestran los resultados del tamizaje fitoquímico en metanol, agua y agua acidulada.

Tabla 2. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble en MeOH (F_M).

Ensayo	Metabolito	Reacción positiva	Resultado
Liebermann	Triterpenos	Color rojo	+
Dragendorff	Alcaloides	Precipitado anaranjado	+
Mayer	Alcaloides	Precipitado blanco lechoso	+
Wagner	Alcaloides	Precipitado marrón	+
Shinoda	Flavonoides	Coloración rojiza	+
Gelatina	Taninos	Formación de precipitado	+++
Gelatina-sal	Taninos	Formación de precipitado	+++
FeCl ₃	Taninos no hidrolizables	Color verde	+++
Baljet	Lactonas α - β insaturados	Coloración anaranjada	+++
Legal	Lactonas α - β insaturados	Coloración Rosada	+
KMnO ₄	Dobles enlaces y oxidables	Decoloración de la solución	++
2,4-Dinitrofenilhidrazina	Cetona alifáticas	Precipitado anaranjado	-

Negativo (-), poco (+), moderado (++), abundante (+++)

Tabla 3. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble H₂O (F_H)

Ensayo	Metabolito	Reacción positiva	Resultado
Börntrager	Quinonas	Coloración roja	+++
Espuma	Saponinas	Formación de espuma	+
Gelatina	Taninos	Formación de precipitado	+++
Gelatina-sal	Taninos	Formación de precipitado	+++
FeCl₃	Taninos no hidrolizables	Color verde	+++
Legal	Lactonas α-β insat. o cetonas y aldehídos	Coloración Rosada	-
Baljet	Lactonas α-β insaturadas	Coloración anaranjada	++
Molish	Carbohidratos	Formación anillo violáceo	-
Ninhidrina	Aminoácidos	Coloración violácea	-

Negativo (-), poco (+), moderado (++), abundante (+++)

Tabla 4. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico soluble H₂O acidificado.

Ensayo	Metabolito	Reacción positiva	Resultado
Dragendorff	Alcaloides	Precipitado anaranjado	+++
Mayer	Alcaloides	Precipitado blanco lechoso	+
Wagner	Alcaloides	Precipitado marrón	++
Sonneschein	Alcaloides	Precipitado amarillo cristalino	+

Negativo (-), poco (+), moderado (++), abundante (+++)

4.2 Resultados del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Ficus citrifolia*

Tabla 5. Resultados del diámetro (mm) de los halos de inhibición de Tetraciclina, DMSO y *Ficus citrifolia* Mill.

Nº Placa	Tetraciclina (30µg) Control Positivo	DMSO (2.5%) Control negativo	Extracto etanólico de <i>Ficus citrifolia</i> 100 mg/mL
1	24.17mm	0	11.19mm
2	24.80mm	0	11.36mm
3	24.03mm	0	12.48mm
4	25.04mm	0	12.75mm
5	24.62mm	0	12.36mm
6	24.34mm	0	10.49mm
7	24.55mm	0	12.07mm
8	24.97mm	0	11.50mm
9	24.26mm	0	12.04mm
10	24.67mm	0	12.10mm
11	25.13mm	0	12.17mm
12	25.22mm	0	11.36mm

Tabla 6. Resultado de la media de los halos de inhibición de tetraciclina y el extracto crudo de *Ficus citrifolia* Mill. más menos la desviación estándar

Muestra	Halo de Inhibición (mm)
Tetraciclina 30µg	24.65 ± 0.39
Extracto crudo <i>Ficus citrifolia</i> 100mg/mL	11.82 ± 0.65
Más menos la desviación estándar	

Resultados estadísticos:

Con respecto al efecto antimicrobiano se usó el método estadístico T de student para muestras independientes del programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), para comprobar si existe o no diferencia significativa entre los grupos evaluados.

Tabla 7. Resultados de la prueba T de student para muestras independientes.

Prueba de muestras independientes										
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
Halo de Inhibición (mm)	Se asumen varianzas iguales	3.722	0.067	58.708	22	0.000	12.82750	0.21850	12.37436	13.28064
	No se asumen varianzas iguales			58.708	18.180	0.000	12.82750	0.21850	12.36878	13.28622

Porcentaje de inhibición

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Halo de inhibición muestra} - \text{Halo de inhibición de Control negativo}}{\text{Halo de inhibición Control Positivo} - \text{Halo de inhibición de Control negativo}} \times 100\%$$

<p>% Inhibición <i>Ficus citrifolia</i> Mill. a 100mg/mL</p>	=	47.96%
---	---	--------

Figura 6. Resultado del porcentaje de inhibición del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill.

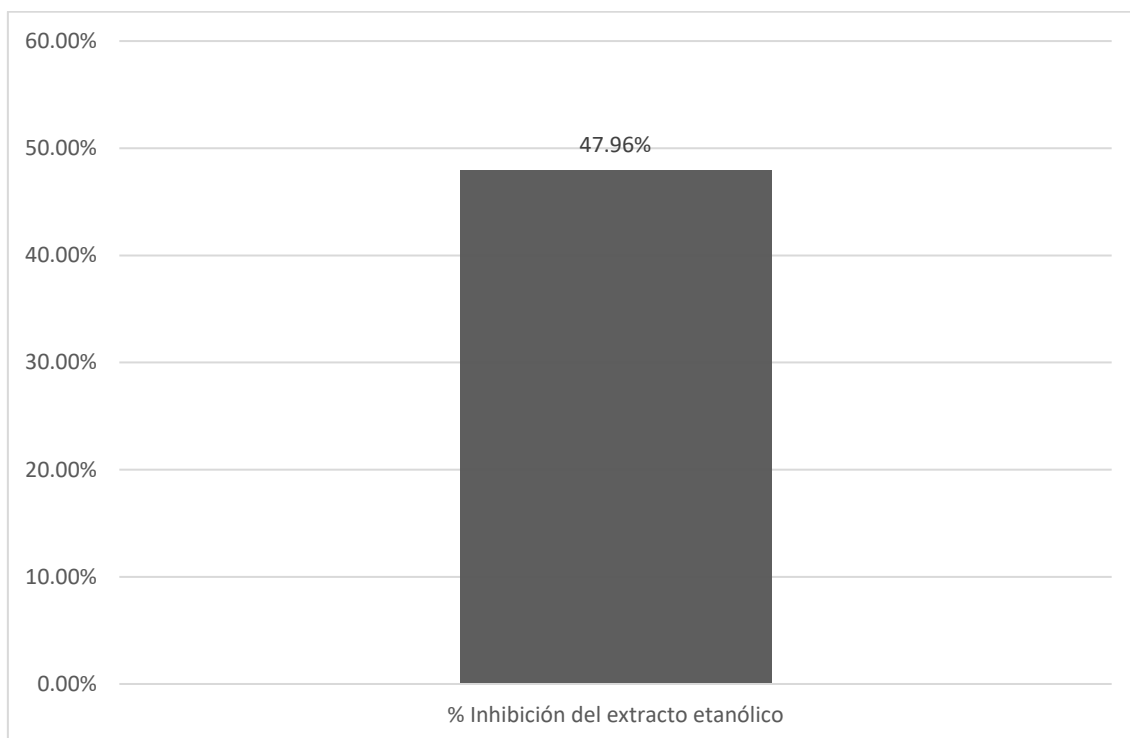


Figura 7. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente al extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill.

4.3 Prueba de Hipótesis

El extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. a una concentración de 100 mg/mL ha demostrado poseer efecto antimicrobiano frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con un porcentaje de inhibición de 47.96%

Los efectos antimicrobianos del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. a una concentración de 100 mg/mL y el fármaco antimicrobiano Tetraciclina 30 μ g presentan una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$); teniendo el fármaco un efecto antimicrobiano superior en 52.04%.

En el extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. se identificaron metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, terpenos y taninos los cuales tienen antecedentes de poseer efecto antimicrobiano.(27)

4.4 Discusión de resultados

4.4.1 Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. demostró la presencia de metabolitos secundarios tales como: flavonoides, taninos y alcaloides; coincidiendo con el *Ficus asperifolia* investigado en Nigeria por los autores Nwankwo y Ukaegbu. Estos autores encontraron la presencia de glicósidos en el extracto de la raíz del *Ficus asperifolia*, mientras que en la corteza del *Ficus citrifolia* no se evidenció la presencia de estos compuestos.(27)

La alta presencia de compuestos fenólicos como los taninos coincide con lo demostrado por Jain con el *Ficus benjamina*(25), donde se hallaron gran cantidad de estos; a su vez, Quesada y colaboradores hallaron gran cantidad de estos compuestos en los extractos de hojas y frutos del *Ficus obtusifolia*; no obstante, en este último no se evidenció la presencia de alcaloides por lo que difiere de lo encontrado en el *Ficus citrifolia* Mill.(21) En adición, tanto el *Ficus citrifolia* como en el *Ficus obtusifolia* se encontró la presencia de alta cantidad de lactonas.

Al igual que en el *Ficus palmata*, investigado por Chandra y Saklani, se encontró la presencia de flavonoides.(47) Estos compuestos también están presentes en el *Ficus ovata*, investigado por Kuete y colaboradores(43); asimismo, el *Ficus sansibarica*, investigado por Awolola y colaboradores, se evidenció la presencia de estos compuestos.

En el *Ficus citrifolia* Mill. se encontró la presencia de terpenos, coincidiendo nuevamente con el *Ficus ovata*(43), con el *Ficus sansibarica*(46) y con el *Ficus lutea* investigado por Poumale.(44)

4.4.2 Efecto antimicrobiano

Según normativa del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) el halo de inhibición para la tetraciclina debería variar entre 24 a 30 mm; el rango obtenido fue de 24.65 ± 0.39 mm (ver tabla 6.); ubicándose dentro del parámetro establecido y otorgando confiabilidad a los resultados.(85) El dimetilsulfóxido a una concentración de 2.5% (v/v) no demostró poseer efecto antimicrobiano

alguno, por lo cual se puede decir que no intervino en el efecto antimicrobiano demostrado por el extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill.

Existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre el extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. y el fármaco Tetraciclina (ver tabla 7) tomando como referencia a la Tetraciclina con un porcentaje de inhibición del 100% se puede inferir que es 52.04% superior al porcentaje de inhibición (Figura 7.) presentado por el extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill.

Los flavonoides encontrados en el extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. (ver tabla 2) podrían inhibir las funciones de la membrana y la síntesis de ADN bacteriano por lo que su presencia contribuye al efecto antibacteriano demostrado por el *Ficus citrifolia* Mill.(86)

Haraguchi y colaboradores demostraron que los flavonoides podían inhibir el metabolismo de las bacterias. En el estudio se observó como las licochalconas inhibieron el consumo de oxígeno (87)

En la investigación de Chandra y Saklani con el *Ficus palmata* se evidenció también la presencia de flavonoides, llegándose a identificar la catequina, la cual presentó actividad antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.(47) En otra investigación con otra especie del mismo género, el *Ficus sansibarica*, se pudo encontrar a la Epicatequina, compuesto que también demostró poseer habilidad antimicrobiana frente a *S. aureus*.(46)

Se ha reportado la potencial actividad antimicrobiana de los taninos frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Además, se ha descrito que una posible causa de la actividad antimicrobiana del ácido tánico (una forma específica de tanino) y algunos taninos complejos sea su interacción con la pared celular bacteriana lo que conduce a una complejación con proteínas de la pared celular y una disrupción de la membrana.(84, 86)

También se detectaron alcaloides en el extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. al igual que en el *Ficus asperifolia* (27). Estos compuestos han presentado actividad antimicrobiana anteriormente a través de diversos mecanismos los cuales varían dependiendo de su estructura, siendo los grupos funcionales

hidroxilo y metoxi los que contribuyen con mayor frecuencia a este efecto antimicrobiano(89)

La presencia de triterpenos podría ser responsable del efecto antimicrobiano, se ha demostrado que aceites esenciales en cuya composición se encuentran terpenos causan lisis en células fúngicas (90).

Otras especies del género *Ficus* donde se hallaron triterpenos son las del *Ficus sansibarica* y el *Ficus ovata*, ambas especies presentaron actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas como el *Staphylococcus aureus*.(43,46)

No se puede determinar un tipo de metabolito secundario responsable del efecto antimicrobiano exhibido en el extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill., sino que se podría adjudicar dicho efecto al conjunto de los diversos metabolitos presentados en esta especie.

Una de las grandes limitaciones del estudio in vitro es la falta de aplicación en estudios in vivo debido a que no se pueden someter a las mismas condiciones.(91) Es decir, estos resultados encontrados no se pueden extrapolar a modelos in vivo sin antes realizar los estudios correspondientes.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

1. En el extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. se identificaron los siguientes metabolitos secundarios con antecedentes de presentar efecto antimicrobiano: flavonoides, taninos, triterpenos y alcaloides.
2. El extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. posee efecto antimicrobiano a una concentración de 100 mg/mL.
3. El extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. posee un porcentaje de inhibición de 47.96% en comparación con la Tetraciclina, existiendo una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los efectos antimicrobianos de ambos.

5.2 Recomendaciones

1. Realizar ensayos para determinar la concentración mínima inhibitoria del *Ficus citrifolia* Mill.
2. Fraccionar el extracto crudo en diferentes partes con solventes de diferente polaridad para evaluar la actividad antimicrobiana de las fracciones.
3. Realizar estudios con las diferentes partes (hojas, frutos, raíz) del *Ficus citrifolia* Mill. con el fin de evaluar su efecto antimicrobiano.
4. Realizar estudios del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. frente a diferentes cepas Gram positivas, Gram negativas y hongos para evaluar el efecto antimicrobiano y ampliar la información que se tiene de esta especie.

Referencias Bibliográficas:

1. Tenover FC, Mohammed MJ. Elección de un método para la vigilancia de bacterias resistentes a los antimicrobianos. 2000;
2. OMS. Estrategia mundial OMS de contención de la resistencia a los Antimicrobianos. Vol. 2a. 2001.
3. Peredo M, Novoa O, Frati A, Flores S, Novoa O, Galicia J, et al. Susceptibilidad de las bacterias aisladas de infecciones gastrointestinales agudas a la rifaximina y otros agentes antimicrobianos en México. *Rev Gastroenterol México. Asociación Mexicana de Gastroenterología*; 2015;81(1):3–10.
4. Hernández C, Blanco V, Mota G, Correa A. Evolución de la resistencia antimicrobiana de bacilos Gram negativos en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Biomédica*. 2014;34(1):91–100.
5. Rocha C, Reynolds N, Simons M. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2015;32(1):139–45.
6. Vignoli R, Seija V. Principales mecanismos de resistencia antibiótica. In: *Temas de Bacteriología y virología médica*. 2006. p. 649–62.
7. OMS. Uso racional de los medicamentos (resolución WHA60.16). 2009;
8. Ovalle M, Saavedra S, González M, Hidalgo A, Duarte C, Beltrán M. Resultados de la vigilancia nacional de resistencia antimicrobiana en infecciones asociadas a la atención en salud en enterobacterias y Gram negativos no fermentadores, Colombia 2012-2014. 2017;37(4).
9. Harbarth S, Kahlmeter G, Kluytmans J, Mendelson M, Hospital GS, Town C, et al. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery and development of new antibiotics. 2017.
10. Instituto de Salud Pública de Chile. Vigilancia de resistencia a antimicrobianos en bacterias que pueden producir infecciones asociadas a la atención en salud. Vol. 5. 2015. p. 3.

11. Frías J, Ramírez G, Herrero C, Acosta Y. *Sechium edule* (jacq): potencia fitoterapéutica como agente antibacteriano. *Medisur*. 2016;14(6):664–70.
12. Rojas F. En defensa de una medicina natural y tradicional avalada por la ciencia. *Revista Cubana de Salud Pública*. 2013;39(4):623–6.
13. Musmeci R, Lezcano M. Acción antimicrobiana del gel de aloe vera sobre *staphylococcus aureus*, *escherichia coli*, *pseudomonas aeruginosa* y *candida albicans*. *Revista sobre estudios e investigaciones del saber académico*. 2013;7:23–7.
14. Reyes R, Palma R. Efecto de tres bactericidas naturales: hierbabuena, orégano y romero sobre las poblaciones de vibriosis en camarones juveniles (*Litopenaeus Vannamei*) en estanques experimentales. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; 2014.
15. Sánchez E, Loruhamá S, García P. Actividad antimicrobiana. In: *Investigación en plantas de importancia médica*. Barcelona: OmniaScience; 2016. p. 77–100.
16. Concha-benavente F. Efecto in vitro del látex de *Ficus insipida* sobre la cascada de la coagulación sanguínea. *Rev Med Hered*. 2010;21:146–52.
17. Bravo A, Acuña W. Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L . *Xilema*. 2015;28(1):61–7.
18. Siccha K. Efecto del extracto etanólico de *Ficus carica* (Moraceae) sobre la formación de larva 2 de *Ascaris suum* y *Trichuris ovis*, en condiciones de laboratorio. Universidad Nacional de Trujillo; 2015.
19. Antoun M, Ramos Z, Vazques J, Oquendo I, Proctor G, Gerena L, et al. Evaluation of the flora of Puerto Rico for in vitro antiplasmodial and antimycobacterial activities. *Phytotherapy Research*. 2001;15:638–42.
20. Guevara E, Gónzales L, Cabrera T, Medina R, Gónzales R. Evaluación de la actividad antimicrobiana “in vitro” de *Ficus religiosa*. *Revista médica electrón*. 2008;30(1):1–6.
21. Quesada L, Castaño J, Bilbao M. Efecto antiparasitario de los extractos etanólicos y etéreos de *Ficus obtusifolia* Kunth(Moraceae), frente a

- parásitos de clase nematodos (*Toxocara cati* y *Toxocara canis*). *Infectio*. 2009;13(4):259–67.
22. Kuete V, Kamga J, Sandjo LP, Ngameni B, Poumale HMP, Ambassa P, et al. Antimicrobial activities of the methanol extract , fractions and compounds from *Ficus polita* Vahl. (Moraceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2011;11(6):1–6.
 23. Othman S, Nur A, Abu S. Antimicrobial activity of *Ficus deltoidea* Jack (Mas Cotek). *Pak J Pharm Sci*. 2012;25(3):675–8.
 24. Corrêa da Cruz R, Agertt V, Boligon AA, Janovik V, Anraku de Campos M, Guillaume D, et al. In vitro antimycobacterial activity and HPLC – DAD screening of phenolics from *Ficus benjamina* L. and *Ficus luschnathiana* (Miq.) leaves. *Nat Prod Res*. 2012;26(23):2251–4.
 25. Jain A, Ojha V, Kumar G, Karthik L, Bhaskara K. Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of Methanolic Extract of *Ficus benjamina* (Moraceae) Leaves. *Res J Pharm Tech*. 2013;6(11):1184–9.
 26. De las Llagas C, Santiago L, Ramos J. Antibacterial activity of crude ethanolic extract and solvent fractions of *Ficus pseudopalma* Blanco leaves. *Asian Pacific J Trop Dis*. 2014;4(5):367–71.
 27. Nwankwo I, Ukaegbu K. Preliminary phytochemical screening and antibacterial activity of two Nigerian medicinal plants (*Ficus asperifolia* and *Terminalis catappa*). *J Med Plant Herb Ther Res*. 2014;2:1–5.
 28. Mahmoudi S, Khali M, Benkhaled A, Benamirouche K, Baiti I. Phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts from ten Algerian *Ficus carica* L. varieties. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2016;6(3):239–45.
 29. Kiruthiga R, Sivaraman D. Evaluation of anti-cancer potential of indian medicinal herbs *Morinda tinctoria* and *Ficus hispida*. *World J Pharm Pharm Sci*. 2016;5(9):1658–70.
 30. Mbosso J, Assob J, Vouffo E, Lenta B, Ngouela S, Tsamo E, et al. In vitro antimicrobial and anti-proliferative activities of plant extracts from

- Spathodea campanulata, Ficus bubu and Carica papaya. Pharm Biol. 2016;54(6):1086–95.
31. Keumoe R, Nguembou MS, Tsouh FP V, Donkeng DVF, Dize D. Antimycobacterial activity of medicinal plants against the causative agent of buruli ulcer: Mycobacterium ulcerans. Int J Mycobacteriology. 2016;5.
 32. López N, Del Cisne L. Selección de semillas y capacidad de germinación de Ficus citrifolia Mill. Revista Forestal Mesoamericana Kurú (Costa Rica). 2014;11(27):65–9.
 33. Francis J, Lowe C. Bioecología de árboles nativos y exóticos de Puerto Rico y las Indias occidentales. Río Piedras: USDA; 2000. 223-226 p.
 34. Ibarra G, Cornejo G, Gonzáles N, Piedra E, Luna A. El género Ficus L. (Moraceae) en México. Botanical Sciences. 2012;90(4):389–452.
 35. Grandtner M, Chevrette J. Dictionary of Trees, Volume 2 South America. Nomenclature, Taxonomy and Ecology. Elsevier; 2013. 252-253 p.
 36. Quattrocchi U. CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants. Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms and Etymology. CRC Press; 2012. 1735 p.
 37. Flores Y. Árboles nativos de la Región Ucayali. Pucallpa; 2014. 270-271 p.
 38. García K. Caracterización química de los flavonoides presentes en Ficus citrifolia Mill. Universidad Politécnica Salesiana; 2015.
 39. Aldana C, Guayasamín L. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de Ficus citrifolia y caracterización química de los polifenoles. Universidad Politécnica Salesiana; 2014.
 40. Li R, Leach D, Myers SP. A new anti-inflammatory glucoside from Ficus racemosa L. Planta Med. 2004;70:421–6.
 41. Andreu M, Friedman M, McKenzie M, Quintana H, Northrop R. Ficus citrifolia, Shortleaf Fig. School of Forest Resources and Conservation,

- UF/IFAS Extension. 2010;1–2.
42. Lansky EP, Paavilainen HM. Figs. The Genus Ficus. CRC Press; 2011.
 43. Kuete V, Nana F, Ngameni B, Tsafack A, Keumedjio F, Tchaleu B. Antimicrobial activity of the crude extract , fractions and compounds from stem bark of *Ficus ovata* (Moraceae). *J Ethnopharmacol.* 2009;124:556–61.
 44. Poumale H, Songfack A, Ngameni B, Pergaud L, Tchaleu B, Shiono Y. A New Ceramide Isolated from *Ficus lutea* Vahl (Moraceae). *Acta Chim Solv.* 2011;58:81–6.
 45. Jiofack M, Lallemand M, Kuete V, Djama C, Wansi J, Trinh-van-Dufat H, et al. A New Sphingolipid and Furanocoumarins with Antimicrobial Activity from *Ficus exasperata*. *Chem Pharm Bull.* 2012;60(8):1072–5.
 46. Awolola G, Koorbanally N, Chenia H, Shode F, Baijnath H. Antibacterial and anti-biofilm activity of flavonoids and triterpenes isolated from the extracts of *Ficus sansibarica* Warb. Subsp. *Sansibarica* (Moraceae) extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2014;11(3):124–31.
 47. Chandra S, Saklani S. Isolation and identification of *Ficus palmata* leaves and their antimicrobial activities. *J Sci Res.* 2017;9(3):193–200.
 48. Guerra A. Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físico-químicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (*phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2005.
 49. Muñoz D. Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante in vitro de hojas y flores de *Passiflora quadrangularis*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2016.
 50. Cordova L. Determinación de la actividad antimicrobiana de las semillas de *Carica papaya* L. “Papaya” in vitro Frente a las cepas ATCC *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli*. Universidad Católica de Santa María.; 2013.

51. Triana E. Selección del método de extracción en base al rendimiento y los resultados del tamizaje fitoquímico en extractos de las hojas de *Mangifera indica* L. Universidad de Guayaquil; 2016.
52. Carrión A, García C. Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metodica. Universidad de Cuenca; 2010.
53. Gonzalez A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del Amazonas. Universidad Nacional de Colombia; 2004.
54. Naveda G. Establecimiento de un proceso de obtención de extracto de ruda (*Ruta graveolens*), con alto contenido de polifenoles. Escuela politécnica nacional; 2010.
55. Macia E, Monesterolo V. Evaluación de los procesos de extraccion y purificación de los compuestos endulzantes de la hoja de *Stevia rebaudiana*. Universidad Tecnológica Nacional; 2008.
56. Montesdeoca V. Elaboración y control de calidad de comprimidos fitofarmacéuticos de ajeno (*Arthemisia absinthium* L.), romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) para combatir la menstruación dolorosa. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2010.
57. Caldas A. Optimización escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido. Universidad de Cuenca; 2012.
58. Eduardo C. Extracciones con Equipo Soxhlet. 2008.
59. Barrera A. Evaluación de la actividad diurética del extracto de Chuquiragua (*Chuquiraga jussieui*) en ratas (*Rattus norvegicus*). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015.
60. Lizcano A, Vergara J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatóge. Pontificia Universidad Javeriana; 2008.
61. Arias C, Rodríguez M. Caracterización fitoquímica y evaluación de la

- actividad cicatrizante de la corteza de Yumbinga (*Terminalia amazonia*) (J.F. Gmel.) Exell. Universidad Politécnica Salesiana; 2014.
62. Vidal F, Peña I, Hernández A, Bertot J, Noda D. Efecto de Remedios Homeopáticos y Gentamicina en Diarreas en Crías Porcinas. *Rev Inv Vet Perú*. 2016;27(4):792–8.
 63. Goodman y Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 12^a Edició. McGraw-Hill; 2011.
 64. Iannacone J, Valle R, Argota G, Carhuapoma M, Castañeda L. Toxicidad de agentes antiparasitarios , antimicrobianos e insecticidas sobre larvas del camarón salino *Artemia franciscana* (Crustacea : Artemiidae). *Revista de Toxicología*. 2016;33(1):31–8.
 65. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio*. 2014;61(1):28–40.
 66. Bustos J, Hamdan A, Gutiérrez M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Revista Biomédica*. 2006;17(4):287–305.
 67. Jiménez J, Correa M. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina : bases moleculares de la resistencia , epidemiología y tipificación. 2009;22(2).
 68. Carmona F, Rúa M, Del Pozo J. Aproximación terapéutica dirigida de las infecciones por *Staphylococcus aureus*. Aspectos clínicos de la prescripción. 2016;
 69. Hamdan A, Martínez JB, González S. Identificación de *Staphylococcus aureus* utilizando como marcadores los genes *nucA* y *femB*. *Revista de Ciencias Clínicas*. 2016;
 70. Casado C, Torrico G, Medina M. Medios de Cultivo en un Laboratorio de Microbiología. 2012.
 71. Madigan M, Martinko J, Bender K, Buckley D, Stahl D. *Brock Biology of Microorganisms*. 14th ed. Pearson; 2015.

72. Cañigueral S, Dellacassa E, Bandoni A. Plantas Medicinales y Fitoterapia : ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? Lat Am J Pharm. 2003;22(3):265–78.
73. Vélez R. Evaluación comparativa de metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de extractos orgánicos de *Cymbopogon citratus* (Hierba luisa) Y *Melissa officinalis* (Toronjil). Universidad Técnica de Machala; 2015.
74. Betés de Toro M, Duran M, Mestres C, Nogués R. Farmacología para fisioterapeutas. 2008. 1-6 p.
75. Tapia J. Introducción a la Cirugía. Mc graw-hill; 2011. 119 p.
76. Agrawal A, Konno K. Latex : A Model for Understanding Mechanisms , Ecology , and Evolution of Plant Defense Against Herbivory. Annu Rev Ecol Evol Syst. 2009;40:311–31.
77. Ortiz D, Posada S, Noguera R. Efecto de metabolitos secundarios de las plantas sobre la emisión entérica de metano en rumiantes. Livest Res Rural Dev. 2014;26.
78. Pérez-Alonso N, Jiménez E. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. Biotecnol Veg. 2011;11(4):195–211.
79. Rodríguez E, León G, Petersen S, Pérez HR, González E, Rayo M. La evolución de la resistencia bacteriana en México, 1973-2013. Biomédica. 2014;34:181–90.
80. Ringuelet J, Viña S. Productos Naturales Vegetales. 2013.
81. Fernández F, Hernández J, Ponce L, Machado C. Resistencia bacteriana. Rev Cuba Med Mil. 2003;32(1):44–8.
82. Lock O. Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: K&G Soluciones graficas; 2016. 287 p.
83. Sacsquispe Contreras R, Velásquez Pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. 2002. 68 p.

84. Kang C, Hah D, Kim C, Kim Y, Kim E, Kim J. Evaluation of Antimicrobial Activity of the Methanol Extracts from 8 Traditional Medicinal Plants. 2011;27(1):31–6.
85. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. 2017. 146 p.
86. Radulovi NS, Blagojevi PD, Stojanovi ZZ, Stojanovi NM. Antimicrobial Plant Metabolites : Structural Diversity and Mechanism of Action. Curr Med Chem. 2013;20:932–52.
87. Haraguchi H, Tanimoto K, Tamura Y, Mizutani K, Kinoshita T. Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. Phytochemistry. 1998;48(1):125–9.
88. Guo J, Sun W, Kim JP, Lu X, Li Q, Lin M, et al. Development of tannin-inspired antimicrobial bioadhesives. Acta Biomater. Acta Materialia Inc.; 2018;
89. Gizem F, Alpogu N, Sariyar B. Phytochemistry An OMIC approach to elaborate the antibacterial mechanisms of different alkaloids. Phytochemistry [Internet]. Elsevier Ltd; 2018;149:123–31. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.12.023>
90. Martínez A, Rojas N, García L, Student G, González F, Domínguez M, et al. In vitro activity of terpenes against *Candida albicans* and ultrastructural alterations. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. Elsevier Ltd; 2014;
91. Andrade V, Martínez A, Rojas N, Bello-toledo H. Antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and diametrical tensile strength of an interim cement modified with zinc oxide nanoparticles and terpenes: An in vitro study. J Prosthet Dent. Editorial Council for the Journal of Prosthetic Dentistry; 2017;1–7.

Anexos

Anexo 1

“Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. (Moraceae), *in vitro*, frente a cepas de *Staphylococcus aureus*”

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES			METODOLOGÍA
			V1: INDEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADOR	
¿El extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. poseerá efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. <i>in vitro</i> frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	El extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. posee efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> frente a las cepas <i>Staphylococcus aureus</i> .	Extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. a una concentración de 100mg/mL.	Fitoquímico.	Identificación de metabolitos secundarios.	I. TIPO DE INVESTIGACIÓN: Experimental. II. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN: Experimento puro debido a que se manipula la variable independiente y se mide su efecto sobre la variable dependiente. III. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN: Población vegetal: Todas las plantas de la especie <i>Ficus citrifolia</i> Mill. Muestra vegetal: Extracto etanólico concentrado de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> . Población microbiana: Cepas bacterianas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. Muestra microbiana: Cultivo de las cepas bacterianas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en 12 placas con agar Mueller Hinton. IV. TECNICA DE PROCESAMIENTO DE RESULTADOS: Tabla y gráficos analizados por el programa estadístico IBM SPSS.
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	V2: DEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADOR	
¿Qué tipo de metabolitos secundarios poseerá el extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill.?	Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	El extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. posee metabolitos secundarios con efecto antimicrobiano.	Efecto antimicrobiano en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Microbiológico.	Medición de los halos de inhibición (mm).	
¿El extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. poseerá efecto antimicrobiano a una concentración de 100mg/mL?	Comprobar si el extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. posee efecto antimicrobiano a una concentración de 100mg/mL.	El extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. posee efecto antimicrobiano a una concentración de 100mg/mL.				
¿En qué magnitud el extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. a 100mg/mL poseerá efecto antimicrobiano en comparación con el fármaco Tetraciclina 30µg?	Demostrar en qué magnitud el extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. a 100mg/mL posee efecto antimicrobiano en comparación con el fármaco Tetraciclina 30µg.	El extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. a 100 mg/mL posee efecto antimicrobiano en magnitud comparable con el fármaco Tetraciclina 30µg.				

Anexo 2

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES				
V1: INDEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ITEMS	INSTRUMENTO
Extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. a una concentración de 100mg/mL.	Fitoquímico.	Identificación de grupos de metabolitos secundarios	Reactivo Liebermann — Terpenos Reactivo Dragendorff — Alcaloides Reactivo Shinoda — Flavonoides Reactivo FeCl ₃ — Taninos no hidrolizables Reactivo Baljet — Lactonas	Ficha de observación Ad Hoc.
V2: DEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ITEMS	INSTRUMENTO
Efecto antimicrobiano en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Microbiológico.	Medición de los halos de inhibición (mm).	Halos de inhibición presentados por el extracto etanólico de la corteza del <i>Ficus citrifolia</i> Mill. a una concentración de 100mg/mL (10 – 12mm). Halos de inhibición presentados por el fármaco Tetraciclina 30µg (24 - 25mm).	Ficha de observación Ad Hoc.

Anexo 3:

Data de consolidación de resultados del efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

Descriptivos					
Muestra			Estadístico	Error estándar	
Halo de Inhibición (mm)	Tetraciclina 30µg Control Positivo	Media		24.6500	0.11370
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	24.3997	
			Límite superior	24.9003	
		Media recortada al 5%		24.6528	
		Mediana		24.6450	
		Varianza		0.155	
		Desviación estándar		0.39389	
		Mínimo		24.03	
		Máximo		25.22	
		Rango		1.19	
		Rango intercuartil		0.74	
		Asimetría		-0.085	0.637
		Curtosis		-1.244	1.232
		Extracto Ficus citrifolia 100mg/MI	Media		11.8225
	95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	11.4118	
			Límite superior	12.2332	
	Media recortada al 5%		11.8450		
	Mediana		12.0550		
	Varianza		0.418		
	Desviación estándar		0.64633		
Mínimo			10.49		
Máximo			12.75		
Rango			2.26		
Rango intercuartil			0.95		
Asimetría			-0.616	0.637	
Curtosis			-0.014	1.232	

Pruebas de normalidad							
Muestra		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Halo de Inhibición (mm)	Tetraciclina 30µg Control Positivo	0.125	12	,200*	0.958	12	0.749
	Extracto Ficus citrifolia 100mg/mL	0.215	12	0.131	0.947	12	0.590

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Distribución normal (p>0.05)

Anexo 4
Certificado de identificación botánica

José Ricardo Campos de la Cruz
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Tel: 4692651. RPM 963689079
E-mail: jocamde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 – INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

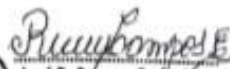
Certifica:

Que, la **Universidad Inca Garcilaso de la Vega**, con RUC: N° 20108383471, con dirección en AV. Arequipa N° 1841 – Lince – Lima – Lima. Con fines de investigación ha solicitado la determinación y certificación botánica de la planta conocida con el nombre vulgar de “**estrangulador**”. La muestra fértil con flores y frutos, procedente del departamento de Loreto, Provincia de Mariscal Ramón Castilla. Distrito de Pebas, se ha determinado como ***Ficus citrifolia* Mill**. Y según el Sistema de Clasificación Botánica de Arthur Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Magnoliopsida
SUBCLASE	: Hammelididae
ORDEN	: Urticales
FAMILIA	: Moraceae
GENERO	: <i>Ficus</i>
ESPECIE	: <i>Ficus citrifolia</i> Mill

Se expide la presente certificación para los fines que estime conveniente.

Lima, 11 de noviembre del 2015


José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796


Anexo 5
Certificado de análisis de la cepa bacteriana.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-290 Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2018/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2016/9/14
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)

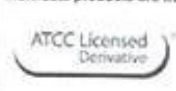
ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
---	---

Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.


Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



TESTING CERT #2655.01

(*) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Description	Symbols	Color
2.300 ... 3.000	highly probable species identification	(+++)	green
2.000 ... 2.299	secure genus identification, probable species identification	(++)	green
1.700 ... 1.999	probable genus identification	(+)	yellow
0.000 ... 1.699	not reliable identification	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Description
A	Species Consistency: The best match was classified as 'green' (see above). Further 'green' matches are of the same species as the first one. Further 'yellow' matches are at least of the same genus as the first one.
B	Genus Consistency: The best match was classified as 'green' or 'yellow' (see above). Further 'green' or 'yellow' matches have at least the same genus as the first one. The conditions of species consistency are not fulfilled.
C	No Consistency: Neither species nor genus consistency (Please check for synonyms of names or microbial mixture).

Analyte Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Analyte Description: 0360
 Analyte ID: 360-290
 Analyte Creation Date/Time: 2016-09-07T13:26:46.948 CC
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, IVD, Listeria
 Applied Taxonomy Tree:

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value
DZ(++) (A)	360-290	Staphylococcus aureus	2.212

Comments:

N/A

Anexo 6

Lectura en espectrofotómetro del estándar de Mc.Farland

Informe Lecturas Avanzadas

Hora Informe	27/09/2017 07:41:03 a.m.
Método	C:\IQFARMA\I+D\D. OREJON
Nombre de Lote	C:\IQFARMA\I+D\MCFALND.BAB
Aplicación	Lecturas Avanzadas 5.0.0.999
Operador	D. OREJON

Condiciones del Instrumento

Instrumento	Cary 60
Nº Versión Instrumento.	2.00
Long.de onda (nm)	625.0
Modo Ordenadas	Abs
T Prom (seg)	0.1000
Replicados	1
Media Muestras	Apag.
Comentarios:	REACTIVO DE MACFALND

Informe Cero

Leer	Abs (625.0 nm)
Cero	0.0015

Análisis

Tiempo Colección	27/09/2017 07:41:03 a.m.
------------------	--------------------------

Muestra	F	Lecturas
MACFANLD		0.0939

Leyenda Marcas Resultados

R = Lectura repetida

Anexo 7



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

Ficha de recolección de datos para la evaluación del efecto antimicrobiano

Cepa microbiana de estudio: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tratamientos antimicrobianos:

- DMSO 2.5% (v/v)
- Tetraciclina 30 µg
- Extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. (100mg/mL)

Hora de la aplicación del disco.....

Fecha de inicio..... Fecha de término.....

Nº Placa	Antibacterianos		
	Halo de Inhibición (mm)		
	Tetraciclina (30µg) Control Positivo	DMSO (2.5%) Control negativo	Extracto etanólico de <i>Ficus citrifolia</i> 100 mg/mL
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			

Anexo 8

Ficha de validación del instrumento de recolección de datos



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Ficha de validación del instrumento de recolección de datos

Título de la tesis: "Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. (Moraceae), *in vitro*, frente a cepas de *Staphylococcus aureus*".

1: Muy bajo; 2: Bajo; 3: Moderado; 4: Alto; 5: Muy Alto

Criterios de evaluación	Valoración				
	1	2	3	4	5
Es claro y preciso.				X	
Es de fácil aplicación.				X	
Reúne los datos principales del experimento.				X	
Contiene a todos los grupos a investigar.				X	
Relaciona el indicador con el ítem.				X	
Se logrará probar las hipótesis con el instrumento.				X	

Puntaje Final: 24

Aprobado

Desaprobado

(Puntaje mayor igual a 20)

(Puntaje menor a 20)

Observaciones:

Apta para el uso

Docente responsable: Nora Gabriela Herrera Hernández



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA

Ficha de validación del instrumento de recolección de datos

Título de la tesis: "Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. (Moraceae), *in vitro*, frente a cepas de *Staphylococcus aureus*".

1: Muy bajo; 2: Bajo; 3: Moderado; 4: Alto; 5: Muy Alto

Criterios de evaluación	Valoración				
	1	2	3	4	5
Es claro y preciso.					✓
Es de fácil aplicación.					✓
Reúne los datos principales del experimento.					✓
Contiene a todos los grupos a investigar.					✓
Relaciona el indicador con el ítem.					✓
Se logrará probar las hipótesis con el instrumento.					✓

Puntaje Final: 30

Aprobado

(Puntaje mayor igual a 20)

Desaprobado

(Puntaje menor a 20)

Observaciones:

APTA para el uso

Docente responsable: Héctor Vilchez Cáceda



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA

Ficha de validación del instrumento de recolección de datos

Título de la tesis: "Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. (Moraceae), *in vitro*, frente a cepas de *Staphylococcus aureus*".

1: Muy bajo; 2: Bajo; 3: Moderado; 4: Alto; 5: Muy Alto

Criterios de evaluación	Valoración				
	1	2	3	4	5
Es claro y preciso.					X
Es de fácil aplicación.					X
Reúne los datos principales del experimento.					X
Contiene a todos los grupos a investigar.					X
Relaciona el indicador con el ítem.					X
Se logrará probar las hipótesis con el instrumento.					X

Puntaje Final: 30

Aprobado

(Puntaje mayor igual a 20)

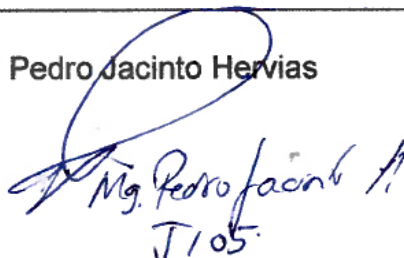
Desaprobado

(Puntaje menor a 20)

Observaciones:

Dpta para el uso

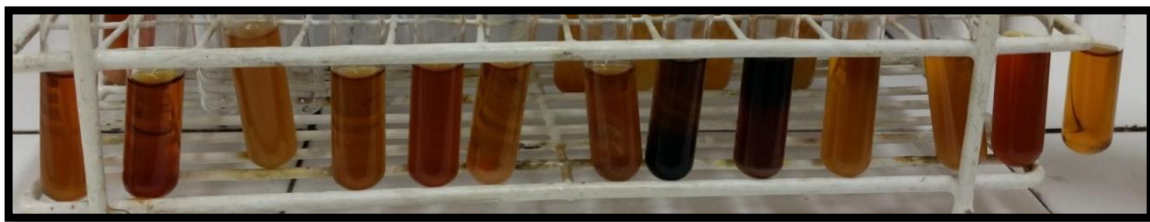
Docente responsable: Pedro Jacinto Hervias


Mg. Pedro Jacinto Hervias
J105

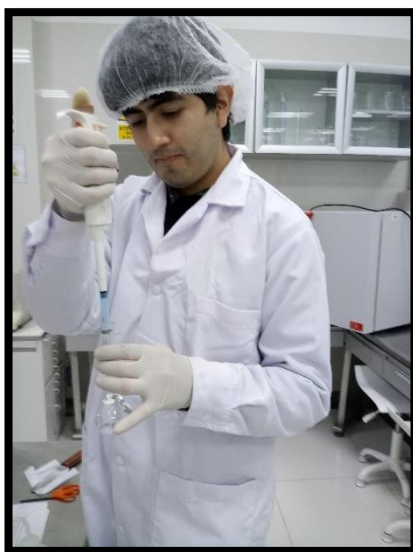
Anexo 9
Testimonios Fotográficos



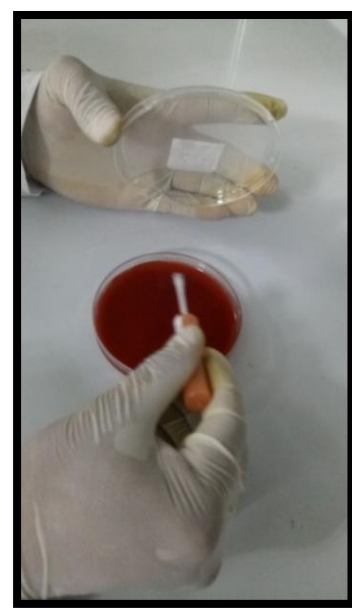
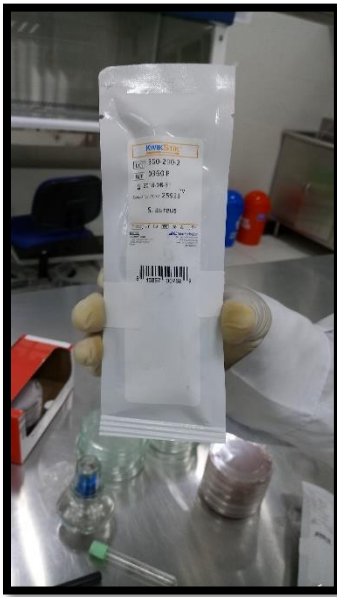
Trozado y pulverizado de la corteza seca del *Ficus citrifolia* Mill



Tamizaje del extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill,



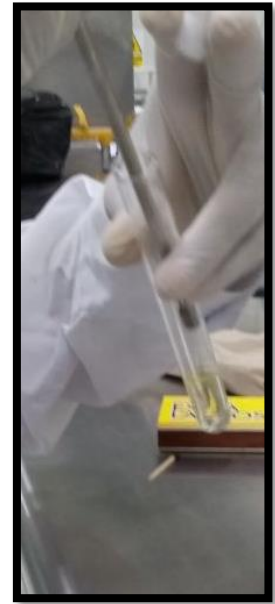
Preparación del estándar de turbidez (Mc Farland)



Reactivación del *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en Agar sangre cordero - soya tripticasa



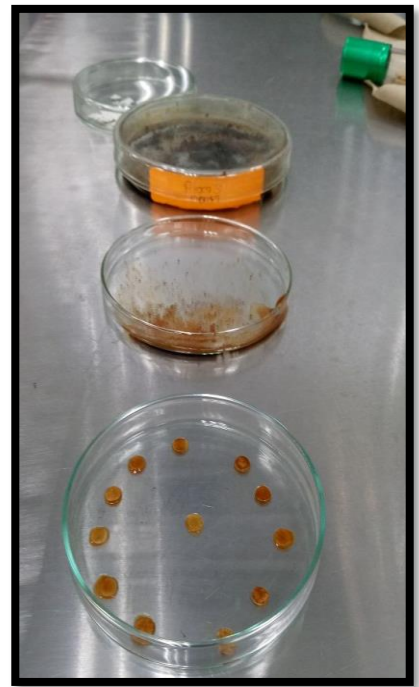
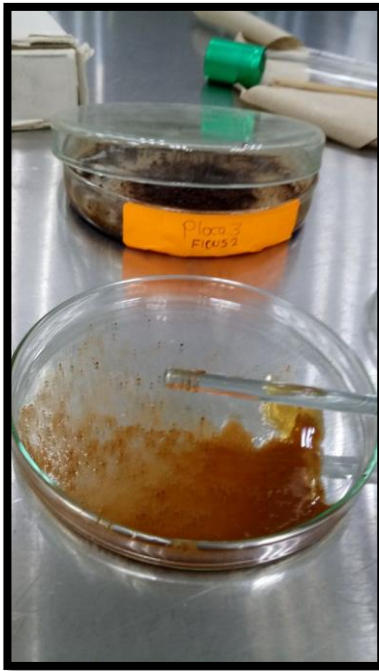
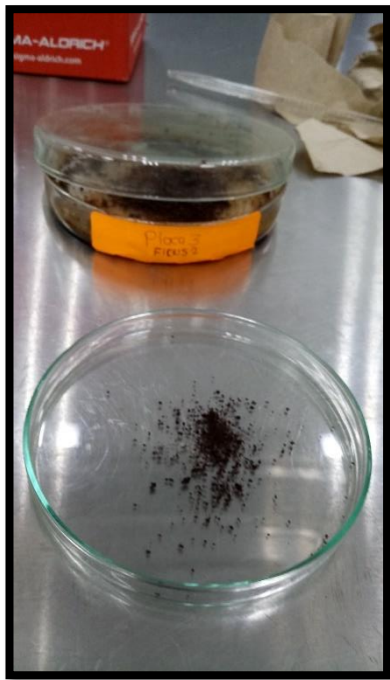
Cepa de *S. aureus* ATCC25923 reactivada



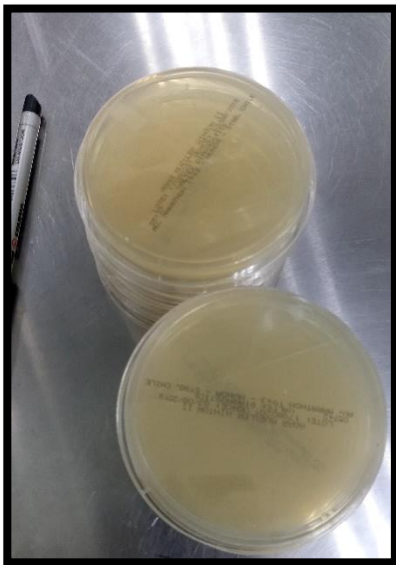
Inoculación de la bacteria en caldo nutritivo TSB



Incubación de la bacteria en caldo nutritivo TSB y comparación con el estándar de turbidez de Mc Farland.



Preparación de los discos del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. a una concentración de 100mg/mL



Sembrado y colocación de discos en agar no selectivo Mueller Hinton.



Lectura de resultados utilizando Vernier electrónico.



Miembros del grupo de investigación en productos naturales

Anexo 10

GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

La investigación en la cual se buscó evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill., fue desarrollada como parte del proyecto de investigación financiado por la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, con la finalidad de fomentar y contribuir al conocimiento de nuevas alternativas medicinales naturales para la población del Perú y el mundo.

INTEGRANTES DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Directora de la investigación:

Químico Farmacéutico, Herrera Hernández Nora Gabriela

Coordinadores:

Bachiller, Fabián Medina Dick

Bachiller, Orejón Gómez Denisse

Estudiantes:

Carranza Chavez Jilmer

Fernández Flores Javier

Mayhua Orellana Ana María

Rodríguez Zelada Fernando André