

# UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



## FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO ETANÓLICO  
DE LAS HOJAS DE *Urtica urens L. (Ortiga negra)*, SOBRE  
*Escherichia coli*, IN VITRO”

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y

Bioquímico

### TESISTAS:

**Bach. Condori Collante, Elizabeth Milagros**

**Bach. Velásquez Soto, Nelysa Catherine**

### ASESORA:

**Dra. Q. F. Heddy Teresa Morales Quispe**

**LIMA – PERU**

**2019**

**TÍTULO:**

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Urtica urens L.* (Ortiga  
negra), SOBRE *Escherichia coli*, in vitro

## DEDICATORIA

*A Dios por que ilumina mi camino, y me dice que, aunque todo se vea oscuro el siempre estará allí para guiarme y darme la luz necesaria para hacer bien las cosas. A mis padres, hermanos y familiares por el apoyo constante para no darme por vencida antes de tiempo y enseñarme a que, si en algún momento de la vida de ese camino me caigo saber levantarme y aprender de ello para poder seguir adelante, por la confianza que han depositado en mi para poder alcanzar mis objetivos. A mis amigos por darme su amistad y compartir las buenas experiencias que hemos vivido en este largo periodo.*

### Milagros

*La investigación la dedico y agradezco a Dios por brindarme la oportunidad de seguir adelante y darme la fuerza y alegría cada día.*

*A mis padres Nely y Jesús que son el pilar de esfuerzo y lucha constante, por ser cómplices de mi sueño y anhelo de ser profesional, a mi hermana Luccia y a mis familiares por ayudarme, entenderme y no dejar que me rinda hasta alcanzarme mi objetivo; además de los principios y valores que me llevan a realizarme como persona. A mis amistades cercanas y a alguien muy especial que llevo en mi vida hace años y que siempre ha depositado su confianza en mí de nunca rendirme.*

Catherine

## **AGRADECIMIENTO**

A la Dra. Heddy Teresa Morales Quispe, por apoyarme y orientarme en el desarrollo de la investigación.

A mis familiares que me apoyaron directa e indirectamente.

A los docentes de la facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega por la disposición en el transcurso de la carrera universitaria.

A mi alma mater la universidad Inca Garcilaso de la Vega, por la formación académica durante mi etapa universitaria.

## RESUMEN

En el trabajo de investigación, se evaluó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Urtica urens* L. "Ortiga negra" en los cultivos de *Escherichia coli*, estudios in vitro. La muestra vegetal fue recolectada en el distrito de Sillapata, provincia de Dos de Mayo del departamento de Huánuco, Perú a 3438 m.s.n.m. Esta planta es muy variada de encontrarse por diversos pisos altitudinales del territorio peruano, siendo importante en el uso de la medicina tradicional por sus aportes terapéuticos. La técnica para determinar los metabolitos secundarios fue la marcha fitoquímica donde se identificó: flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, aminoácidos y cumarinas. El microorganismo utilizado fue la cepa *Escherichia coli* (ATCC 25922). La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en agar (Método de Kirby- Bauer), comparando con su control positivo Ciprofloxacino. Las concentraciones aplicadas del extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) fueron de 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento, y 100 por ciento, que fueron incubadas por 24, 48 y 72 horas a 37 ° C. Los resultados obtenidos de la investigación demostraron que la concentración al 75 por ciento mostró una medida promedio de 11.49 mm del halo de inhibición con 52.78% de su efecto inhibitorio, seguida la concentración al 100 por ciento que evidenció una medida promedio de 16.47 mm del halo de inhibición con 75.65 % de su efecto inhibitorio; siendo la que presentó mayor actividad antibacteriana en el transcurso del período de incubación, se observó que a mayor concentración del extracto será mayor el efecto inhibitorio, según los datos obtenidos por medio del programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) v. 23. Se concluyó que el extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) presenta actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*.

Palabras Clave: *Urtica urens* L. "Ortiga negra"; actividad antibacteriana; Efecto inhibitorio relativo (PEIR).

## SUMMARY

In the research work, the antibacterial activity of the ethanolic extract of *Urtica urens* L. (Nettle) in *Escherichia coli* cultures, in vitro studies, was evaluated. The sample was collected in Sillapata district, province Dos de Mayo, department Huanuco, Peru. This plant is very varied to find by different altitudinal floors of Peruvian territory, being important in the use of traditional medicine for its therapeutic contributions. The technique to determine the secondary metabolites was the phytochemical march where it was identified: flavonoids, tannins, phenolic compounds and coumarins. The microorganism to be used is the strain *Escherichia coli* (ATCC 25922). The antibacterial activity was evaluated by the agar diffusion method (Kirby-Bauer method), comparing with its positive control Ciprofloxacin. The applied concentrations of the ethanolic extract of *Urtica urens* L. (Nettle) were 25 percent, 50 percent, 75 percent, and 100 percent were incubated for 24, 48 and 72 hours at 37° C, measuring halos of inhibition. The results obtained from the investigation showed that the concentration at 75 percent showed an average of 11.49 mm of the halo of inhibition with 52.78% of its inhibitory effect, followed by the concentration at 100 percent that showed a 16.47 mm of the inhibition halo with 75.65% of its inhibitory effect; being the one that showed the highest antibacterial activity and showed the best result during the incubation period, compared with its positive control. It is concluded that the ethanolic extract of the leaves of *Urtica urens* L. presents antibacterial activity on *Escherichia coli*. Conclusion: The ethanolic extract of the leaves of *Urtica urens* L. presents antibacterial activity on *Escherichia coli*.

Key words: *Urtica urens* L. "Nettle"; Antibacterial effect; Relative inhibitory effect (PEIR).

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| DEDICATORIA  |    |
| AGRACEDIMIENTO   |    |
| RESUMEN  |    |
| SUMARY   |    |
| ÍNDICE DE TABLAS   |    |
| ÍNDICE DE FIGURAS  |    |
| ÍNDICE DE CUADROS  |    |
| ÍNDICE DE GRÁFICOS   |    |
| INTRODUCCIÓN.....  | 1  |
| CAPITULO I - PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....                  | 3  |
| 1.1. Descripción de la realidad problemática.....              | 3  |
| 1.2. Formulación del problema .....                            | 4  |
| 1.2.1. Problema general .....                                  | 4  |
| 1.2.2. Problema específico.....                                | 4  |
| 1.3. Objetivos.....  | 5  |
| 1.3.1. Objetivo general .....                                  | 5  |
| 1.3.2. Objetivos específicos .....                             | 5  |
| 1.4. Justificación e importancia del estudio .....             | 5  |
| CAPITULO II - MARCO TEÓRICO .....                              | 8  |
| 2.1. Antecedentes del Estudio .....                            | 8  |
| 2.1.1. Nacionales .....  | 8  |
| 2.1.2. Internacionales.....                                    | 9  |
| 2.2. Bases Teóricas.....                                       | 15 |
| 2.2.1. Ortiga .....  | 15 |
| 2.2.2. Extracto vegetal .....                                  | 30 |
| 2.2.3. Métodos de Extracción a partir de plantas vegetales ... | 31 |
| 2.2.4. Tamizaje fitoquímico .....                              | 32 |

|   |    |
|---|----|
| 2.2.5. Actividad antibacteriana .....                       | 32 |
| 2.2.6. Enfermedades de transmisión alimentaria (ETA).....   | 35 |
| 2.2.7. <i>Escherichia coli</i> .....                        | 36 |
| 2.2.8. Quinolonas .....                                     | 41 |
| 2.2.9. Ciprofloxacino .....                                 | 43 |
| 2.2.10. Método Difusión en disco (Kirby-Bauer) .....        | 45 |
| 2.3. Hipótesis.....   | 46 |
| 2.3.1. Hipótesis general .....                              | 46 |
| 2.3.2. Hipótesis específicas.....                           | 46 |
| 2.4. Variables.....   | 47 |
| 2.4.1. Tabla de Operacionalización de variables .....       | 47 |
| 2.5. Marco Conceptual.....                                  | 48 |
| 2.5.1. Definición de términos .....                         | 48 |
| CAPITULO III – MÉTODO .....                                 | 51 |
| 3.1. Tipo de Estudio.....                                   | 51 |
| 3.2. Diseño a utilizar .....                                | 51 |
| 3.3. Población.....   | 52 |
| 3.3.1. Población vegetal .....                              | 52 |
| 3.3.2. Población microbiológica.....                        | 52 |
| 3.4. Muestra .....  | 52 |
| 3.4.1. Muestra vegetal.....                                 | 52 |
| 3.4.2. Muestra microbiológica.....                          | 52 |
| 3.5. Técnica e Instrumentos de recolección de datos .....   | 52 |
| 3.5.1. Instrumento de recolección de datos .....            | 53 |
| 3.5.2. Materiales, Reactivos y Equipos de Laboratorio ..... | 54 |



|   |           |
|---|-----------|
| 3.6. Procesamiento de datos .....   | 57        |
| 3.6.1. Recolección y Autenticación botánica.....                                      | 57        |
| 3.6.2. Preparación Muestra vegetal.....   | 57        |
| 3.6.3. Obtención del extracto vegetal .....   | 57        |
| 3.7. Tamizaje Fitoquímico.....  | 58        |
| 3.7.1. Prueba de Solubilidad .....  | 58        |
| 3.7.2. Marcha Fitoquímica.....  | 58        |
| 3.7.3. Cromatografía en capa fina .....   | 65        |
| 3.8. Ensayo Microbiológico .....  | 66        |
| 3.8.1. Preparación del Agar Mueller- Hinton.....                                      | 67        |
| 3.8.2. Preparación del estándar (0,5 Mc. Farland) para el<br>inóculo bacteriano ..... | 67        |
| 3.8.3. Diluciones del extracto .....  | 67        |
| 3.8.4. Uso de los discos de antibiótico con el extracto.....                          | 68        |
| 3.8.5. Preparación del inóculo .....  | 68        |
| 3.8.6. Inoculación en placas .....  | 68        |
| 3.8.7. Aplicación de los discos .....   | 69        |
| 3.8.8. Medición de los halos de inhibición .....                                      | 69        |
| 3.8.9. Procesamiento de Datos .....   | 70        |
| 3.9. Prueba estadística .....   | 71        |
| 3.9.1. Análisis de Varianza .....   | 71        |
| <b>CAPITULO IV – PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .</b>                          | <b>73</b> |
| 4.1. Presentación de resultados.....  | 73        |
| 4.1.1. Prueba de Solubilidad .....  | 73        |
| 4.1.2. Marcha Fitoquímica.....  | 73        |
| 4.1.3. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro.....                        | 76        |

|  |     |
|--|-----|
| 4.2. Contrastación de Hipótesis .....  | 83  |
| 4.2.1. Contrastación Hipótesis General .....   | 83  |
| 4.2.2. Contrastación Hipótesis específicas .....   | 84  |
| 4.3. Discusión de Resultados.....  | 90  |
| CAPITULO V – CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....  | 92  |
| 5.1. Conclusiones .....  | 92  |
| 5.2. Recomendaciones .....   | 93  |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....  | 94  |
| ANEXOS .....   | 100 |
| ANEXO N° 1. Matriz de Consistencia .....   | 101 |
| ANEXO N° 2. Operacionalización de Variables.....   | 102 |
| ANEXO N° 3. Constancia de Identificación Taxonómica <i>Urtica urens</i> L.<br>(Ortiga) .....   | 103 |
| ANEXO N° 4. Certificado de Calidad Cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC25922<br>.....   | 104 |
| ANEXO N° 5. Evaluación de la Actividad Antibacteriana por el método<br>de Kirby Bauer .....  | 105 |
| ANEXO N° 6. Ficha de Recolección de datos para la “Actividad<br>Antibacteriana del Extracto Etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L.<br>(Ortiga), sobre <i>Escherichia coli</i> , in vitro”..... | 106 |
| Panel Fotográfico.....   | 113 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 2.1. Métodos de Extracción.....  | 31 |
| Tabla 3.1. Resultado Juicio de Expertos .....  | 53 |
| Tabla 4.1. Resultados de la prueba de solubilidad del extracto etanólico de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) .....  | 73 |
| Tabla 4.2. Resultados del Tamizaje fitoquímico de los metabolitos secundarios del Extracto etanólico de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra).....   | 74 |
| Tabla 4.3. Lectura de formación de los halos de inhibición según porcentaje de efectividad de las concentraciones del extracto Etanólico de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga) .....                      | 76 |
| Tabla 4.4. Porcentaje de inhibición del extracto Etanólico de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) a las concentraciones del 75 % y 100 % comparado con el fármaco .....                              | 79 |
| Tabla 4.5. Porcentaje de variabilidad con respecto a los Controles.....  | 80 |
| Tabla 4.6. Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad entre la medida de los halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) sobre <i>Escherichia coli</i> ..... | 81 |
| Tabla 4.7. Contrastes múltiples (ANOVA) de la actividad entre la medida de los halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) sobre <i>Escherichia coli</i> ..... | 82 |
| Tabla 4.8. Prueba de Normalidad .....  | 87 |
| Tabla 4.9. Prueba de Homogeneidad de varianzas.....  | 87 |
| Tabla 4.10. Análisis de Varianza (ANOVA).....  | 88 |
| Tabla 4.11. Prueba de Tukey para la diferencia de las medias .....   | 89 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 2.1. Partes de la Ortiga .....   | 18 |
| Figura 2.2. Flavonoides. Estructura básica y tipos .....                                      | 22 |
| Figura 2.3. Tipos de Flavonoides .....  | 23 |
| Figura 2.4. a) Ácido gálico; b) Ácido elágico .....   | 25 |
| Figura 2.5. Estructura Flavan-3-ol.....   | 26 |
| Figura 2.6. 2-metil-1,4-naftaquinona (Vitamina K).....  | 27 |
| Figura 2.7. Clasificación de las quinonas.....  | 27 |
| Figura 2.8. Clasificación de los alcaloides .....   | 30 |
| Figura 2.9. AB: Mecanismo de acción.....  | 33 |
| Figura 2.10. Mecanismo de acción de los antibióticos y su blanco.....                         | 34 |
| Figura 2.11. Enfermedades de transmisión alimentaria .....                                    | 35 |
| Figura 2.12. Grupos de <i>Escherichia coli</i> causantes de diarrea.....                      | 38 |
| Figura 2.13. Tratamiento para Gastroenteritis infecciosa; <b>Error! Marcador no definido.</b> |    |
| Figura 2.14. Generaciones de las quinolonas .....   | 42 |
| Figura 2.15. Relación estructura - actividad de las quinolonas.....                           | 43 |
| Figura 2.16. Estructura del ciprofloxacino .....  | 43 |
| Figura 3.1. Cromatografía.....  | 66 |
| Figura 3.2. Patrón de distribución de los discos en el medio de cultivo .....                 | 69 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|  |    |
|--|----|
| Cuadro 3.1. Prueba de Solubilidad .....  | 61 |
| Cuadro 3.2. Prueba de Carbohidratos.....   | 61 |
| Cuadro 3.3. Prueba de Flavonoides.....   | 62 |
| Cuadro 3.4. Prueba para Compuestos Fenólicos.....  | 62 |
| Cuadro 3.5. Prueba para Cumarinas.....   | 63 |
| Cuadro 3.6. Prueba para Taninos .....  | 63 |
| Cuadro 3.7. Prueba de Alcaloides.....  | 64 |
| Cuadro 3.8. Prueba de Aminoácidos .....  | 64 |
| Cuadro 3.9. Prueba de Saponinas .....  | 65 |
| Cuadro 3.10. Fórmula del Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) ...            | 70 |
| Cuadro 3.11. Clasificación Actividad Antibacteriana según porcentaje de inhibición ..... | 70 |

## ÍNDICE DE GRÁFICO

|   |    |
|---|----|
| Gráfico 4.1. PEIR del Ciprofloxacino con la concentración al 75% .....  | 78 |
| Gráfico 4.2. PEIR del Ciprofloxacino con la concentración al 100% .....   | 79 |
| Gráfico 4.3. Promedio de los halos de inhibición de las concentraciones del extracto etanólico de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga) sobre <i>Escherichia coli</i> ..... | 84 |

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de incidencias estomacales se han manifestado a lo largo de la historia, provocando estragos en la población. Actualmente sigue siendo de preocupación constante debido al desarrollo e incremento de resistencia bacteriana de microorganismos como las bacterias Gram negativas (*Pseudomonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*, etc.); sufriendo cambios al tratar de ser combatidos por los antimicrobianos (antibióticos, antifúngicos, antivíricos). Este problema varía en cada país, territorios y hospital resultando que los medicamentos sean ineficaces frente alguna infección y las infecciones se prolonguen en el organismo, incrementando el riesgo de contagio. Es por ello que existe motivos suficientes para seguir investigando y desarrollando nuevos compuestos a partir de las plantas consideradas como terapias medicinales, por sus grandes beneficios y compuestos activos frente las bacterias para el desarrollo de nuevos fármacos.

“Nuestro país posee una gama de conocimientos ancestrales de la medicina natural que favorece el desarrollo sostenible de los principios activos y de la actividad farmacológica, satisfaciendo las necesidades de la población que emplea la naturaleza como medio de curación, en especial aquellas que no cuentan con una atención oportuna de salud.

Por esta razón, el enfoque de nuestro estudio en la especie *Urtica urens* L. “Ortiga negra”, con propiedades curativa para tratar dolencias artríticas, propiedades terapéuticas en enfermedades de la piel, diurético, analgésico, laxante, alivio de dolores musculares y articulaciones, por el alcance y costo

accesible de los pobladores, siendo sus hojas ricas en metabolitos como ácidos fenólicos, flavonoides y taninos.

En el Perú la flora se encuentra en los departamentos de la costa, sierra y selva. El desarrollo de la actividad antibacteriana se ha estudiado en diversas plantas, sin embargo, durante estos últimos quince años, diferentes estudios que han sido realizados podrían difundir aún más las propiedades que posee la especie *Urtica urens* L.

El objetivo del presente estudio es determinar la actividad antibacteriana de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) sobre las cepas de *Escherichia coli* con el fin de contribuir mayor información al aporte de la investigación científica que permita el respaldo y uso tradicional de la planta como agente antibacteriano frente a bacterias patógenas que se encuentran en nuestro medio.

El trabajo está estructurado en cinco capítulos. El primer capítulo corresponde al planteamiento del problema, formulación del problema, objetivos generales y específicos y la justificación e importancia del estudio.

El segundo capítulo tiene lugar el marco teórico, donde se desarrollan los antecedentes, las bases conceptuales relacionadas con el título de la investigación, la hipótesis y definiciones de términos básicos.

En el tercer capítulo se plantea el marco metodológico, donde se aprecia el tipo y diseño de investigación, así como también la población y muestra y recolección de datos. En el cuarto capítulo se detallan los resultados que se muestran en tablas y gráficos. En el quinto capítulo se detallan las conclusiones y recomendaciones de acuerdo con las hipótesis planteadas.



## CAPITULO I - PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Descripción de la realidad problemática

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), constituyen uno de los problemas más comunes a nivel mundial que afecta sobre todo a los países subdesarrollados como América Latina teniendo como protagonistas a las personas de bajos recursos económicos. Estas enfermedades se originan por el consumo de agua, alimentos contaminados y personas con poca higiene personal que están en contacto con los alimentos.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), “la incidencia anual de diarrea estimada en el mundo es de 1.500 millones de casos y, se ha descrito que el 70 % de las diarreas se originan por la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos y/o sus toxinas” <sup>(11)</sup>. En la Región de las Américas cerca de 77 millones de personas al año son afectadas y de estas 9.000 al año mueren, teniendo como personas vulnerables a los niños menores de cinco años con 31 millones y de ellos mueren 2.000 al año. La norovirus, *Campylobacter*, *E. coli* y *Salmonella spp* son los agentes causales 95% de los casos que afectan a la población <sup>(39)</sup>.

La publicación realizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) de la lista de patógenos prioritarios en cuanto a la resistencia de los antibióticos, en las que se encuentran 12 familia bacterianas, dividiéndolas en 3 categorías de prioridad crítica, alta o media, destacando las enterobacteriáceas como *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia*, y *Proteus*. Siendo estas bacterias de prioridad crítica <sup>(41)</sup>. La *Escherichia coli* es la bacteria causante de problemas gastrointestinales que pueden ser leves, graves y muy graves.

La dirección ejecutiva de inteligencia sanitaria junto con la dirección de epidemiología e investigación, señalan que el acumulado de enfermedades transmitidas por alimentos en una semana solo en DIRESA LIMA es de 103 casos notificados, siendo la provincia de Barranca la que se presentaron mayor número de casos. <sup>(11)</sup>

El Perú es uno de los países más privilegiados con la mayor biodiversidad de especies vegetales que se encuentran en la costa sierra y selva. Los indígenas utilizan las plantas como recurso de sanación a sus problemas o dolencias. La Ortiga denominada como mala hierba por los pobladores crece en huertos, escombros y posaderos de ganado, se pueden recolectar todo en año y es muy popular ya que ofrece un número de propiedades terapéuticas, nutritivas y agrícolas <sup>(13)</sup>.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

¿El extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra), presentará actividad antibacteriana, sobre *Escherichia coli*, in vitro?

### **1.2.2. Problema específico**

- ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)?
- ¿Existirá una concentración del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) que presente actividad antibacteriana sobre, *Escherichia coli*, in vitro?

- ¿Presentará similar actividad antibacteriana el extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) comparado con Ciprofloxacino, sobre *Escherichia coli*, in vitro?

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar si el extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) presente actividad antibacteriana, sobre *Escherichia coli*, in vitro.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra).
- Determinar qué concentración del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) presenta actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, in vitro.
- Determinar si la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) es similar comparado con Ciprofloxacino, sobre *Escherichia coli*, in vitro.

### **1.4. Justificación e importancia del estudio**

La medicina tradicional es considerada por la OMS como “el 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 “, denominada también en algunos países como medicina alternativa o complementaria <sup>(38)</sup>.

Se ha utilizado a las plantas desde tiempos antiguos como parte de la medicina tradicional, teniendo una importancia a nivel mundial sobre todo en países en vías de desarrollo, ya que es el único modo de tratamiento accesible para personas de bajos recursos. La biodiversidad de plantas que existen en el mundo hace posible el tratar afecciones que aquejan a la humanidad. <sup>(45)</sup> Dentro de las infecciosas más frecuentes encontramos a aquellas que son transmitidas por alimentos que afectan el tracto digestivo causando vómitos, dolor abdominal, diarreas y fiebre. Las ETA tienen como protagonista a diferentes bacterias entre ellas las enterobacterias como la *Escherichia coli*, bacteria que en los últimos tiempos vienen causando resistencia a fármacos que son utilizados como tratamiento de primera elección ante este tipo de infección.

En un comunicado de la OMS de febrero del 2017 la Dra. Marie-Paule Kieny señala: “La resistencia a los antibióticos va en aumento y estamos agotando muy deprisa las opciones terapéuticas. Si dejamos el problema a merced de las fuerzas de mercado exclusivamente, los nuevos antibióticos que con mayor urgencia necesitamos no estarán listos a tiempo” <sup>(41)</sup>. Por eso es importante la creación de nuevos antibióticos que sean accesibles a la población utilizando a las plantas como parte de este proyecto.

El Perú es un país que posee gran variedad de plantas, que puede aportar beneficios a la sociedad tanto en el área económica como en el área de la ciencia, plantas como la *Urtica urens* que no necesita tantos cuidados para su desarrollo. por eso en este trabajo se propone darle mayor importancia a las plantas como parte del desarrollo de nuestro país.

La medicina tradicional es considerada por la OMS como “el 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 “<sup>(38)</sup>.

## CAPITULO II - MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del Estudio

#### 2.1.1. Nacionales

**Fernández N. (2016)**, desarrolló la investigación “Eficacia antimicrobiana del extracto de *Urtica dioica* sobre *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro”, con el fin de demostrar si el extracto presenta eficacia antimicrobiana.

Las soluciones empleadas en la parte experimental, fue obtener el extracto etanólico a 5 concentraciones de 20%, 40%, 60% 80% y 100 % respectivamente, utilizando como control positivo la Clindamicina y agua destilada como control negativo. La cepa se obtuvo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo (Trujillo, Perú).

Para la preparación y siembra del inóculo se utilizó la técnica de siembra en superficie a 37° C por 12 a 24 horas, hasta alcanzar el patrón de turbidez con el estándar de 0,5 Mc Farland usando Agar Mueller Hinton. La eficacia antimicrobiana se determinó mediante el método de difusión en disco, observando que el extracto etanólico a la concentración del 80 % presenta un halo de inhibición de 6.70 mm a comparación de las demás concentraciones, llegando a concluir que no existe eficacia antibacteriana del extracto de *Urtica dioica* sobre el *Staphylococcus aureus*, a diferencia de la Clindamicina que se obtuvo un halo de 21.82 mm, concluyendo que el fármaco resultó ser más eficaz en el estudio. <sup>(14)</sup>

### 2.1.2. Internacionales

**Guamán F. (2015)**, realizó el trabajo, “Determinación y Comparación de la actividad antibacteriana de extractos de dos especies de ortiga sobre bacterias de importancia clínica”. El propósito del estudio es determinar la actividad antibacteriana y antifúngica in vitro de los extractos de ortiga: *Urtica urens*(Ortiga) y *Urtica baccifera* L. (ortiga brava Gaudich).

En el desarrollo del trabajo se prepararon extracto acuoso de ortiga. Se determinó la actividad antimicrobiana mediante el método de microgotas y el método de difusión en disco sobre las cepas *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315) y el hongo *Candida albicans* (ATCC 10231); comparando con sus controles positivos: Ceftriaxona, Eritromicina y Ketoconazol y control negativo: Agua destilada, Etanol y Dimetilsulfóxido.

Los resultados que la *Urtica urens* presentó, la acción inhibitoria sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Candida albicans*; por el contrario, *Urtica baccifera* presentó actividad frente a *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, concluyendo que la *Urtica urens* presenta mayor actividad sobre las bacterias <sup>(21)</sup>

**Yáñez G. (2014)**, desarrolló la “Investigación de la Actividad Antimicrobiana y Fitoquímica de Extractos de Plantas Medicinales frente a los Microorganismos Patógenos *Escherichia coli* y *Candida albicans*”. Se orientó el estudio en

investigar la actividad Antimicrobiana y Fitoquímica de Extractos de Plantas frente a los patógenos *Escherichia coli* y *Candida albicans*, realizándose 4 diferentes métodos: maceración etanólico y en hexano, infusión y decocción para su obtención de 8 diferentes especies vegetales: albahaca (*Ocimum basilicum*), ambo (*Nicandra physalodes*), guayaba (*Psidium guajava*), hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), matico (*Aristeguitia glutinosa*), ortiga negra (*Urtica dioica*), paico (*Chenopodium ambrosioides*) y tomillo (*Thymus vulgaris*); tomando solventes con distinta polaridad como; agua, etanol y hexano, y así determinar el mejor solvente para identificar los metabolitos. La actividad antimicrobiana se determinó por el método de dilución a concentraciones de 100 mg/ml, 250mg/ml, 500 mg/ml, 100 mg/ml, 2500 mg/ml y 5000 mg/ml respectivamente.

Los resultados obtenidos mostraron que el extracto de Tomillo al 100 % presentó efectividad de inhibición frente a *Escherichia coli* a la concentración de 5000 mg/l, al igual que el extracto de Paico con un 100 % de inhibición de crecimiento a la concentración de 2500 mg/l.

El análisis fitoquímico de las hojas secas de las plantas con mayor efecto antibacteriano mostró que los metabolitos de las hojas de paico contienen la presencia de aceites esenciales, alcaloides, taninos, flavonoides, triterpenos y esteroides; mientras que las del tomillo presentan: flavonoides, aceites esenciales, taninos, saponinas, triterpenos y esteroides.

Para la *Candida albicans* el extracto de tomillo y paico demostraron actividad antibacteriana frente al hongo con un 100 % de inhibición del crecimiento de la levadura a la concentración de 2500 mg/L bacteriana al igual



que el extracto de matico. A diferencia del extracto de matico se obtuvo un 75 % de inhibición a 2500 mg/L de su concentración.

A diferencia el extracto de ortiga presentó un menor porcentaje de inhibición a la concentración de 5000 mg/ml para ambos microorganismos. Se concluye que la actividad antimicrobiana ejercida por los extractos vegetales frente a los microorganismos estudiados va en la siguiente distribución: paico, tomillo, matico, ortiga, hierba luisa, albahaca, ambo y guayaba. <sup>(59)</sup>

**Alvarado M. et al (2009)**, en su investigación “Influencia de la Altitud sobre la Actividad Antibacteriana de Extractos de Malva, Ortiga y Ajenjo mediante el Método de Dilución Seriada en Tubo de Ensayo”. El objetivo del estudio es determinar la actividad antimicrobiana frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Escherichia coli* (ATCC 25922) los extractos hidroalcohólicos de las plantas, obtenidos por maceración de etanol: agua en una proporción de (70:30).

Se procedió a diluir a concentraciones 8 mg/ml, 4 mg/ml, 2 mg/ml y 1 mg/ml; usando Ampicilina inyectable como control positivo y Dimetilsulfóxido como control negativo. Para determinar la actividad antibacteriana se realizó por el método de dilución seriada en tubos de ensayos, permitiendo hallar la concentración mínima inhibitoria de los extractos. Sin embargo, por interferencia de la coloración de los extractos, se procedió a la técnica de siembra del inóculo en placas usando el estándar 0,5 Mc Farland usando Agar tripticosa soya a 37°

C por un período de incubación de 18 – 24 horas, visualizando la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano.

El resultado obtenido evidenció que los extractos de malva olorosa, ajeno y ortiga presenta una CMI de 99.99 % en la dilución a 8 mg/ml, frente a *Staphylococcus aureus*, aunque la malva olorosa a la dilución de 2 mg/ml tuvo la CMI al 99 %. Sin embargo, es posible que la altitud de la recolección de las plantas estudiadas influya en la actividad antibacteriana, por lo que se deberá realizar un control de los factores múltiples que se realicen a la hora de la recolección. <sup>(1)</sup>

**Sulca T. (2010)**, realizó la investigación “Determinación de la Actividad antimicrobiana de los extractos de *Acmella repens* (Botoncillo), *Urtica dioica* (Ortiga negra) y *Sonchus oleraceus* (Kana yuyo), plantas registradas en la parroquia de la Esperanza – Imbabura, sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*, causantes de enfermedades bucofaríngeas”. El objetivo del estudio es determinar la actividad antimicrobiana de las especies vegetales sobre los microorganismos.

En el desarrollo del trabajo se prepararon extractos acuosos, etanólico y hexánicos de cada especie vegetal. Se determinó la actividad antimicrobiana por el método de difusión tanto en discos húmedos y discos secos, con soluciones a concentraciones de 0%, 25%, 50 %, 80 % y 100 % de cada extracto, en condiciones de anaerobiosis de 24 a 48 horas para las bacterias y de 48 a 72

horas para el hongo, para luego proceder a la lectura de los diámetros de halo de inhibición.

Los resultados obtenidos mostraron que el extracto etanólico de *Acmella Repens* (Botoncillo) presentó actividad antimicrobiana a la concentración del 50 % en sensidisco húmedos a las 48 horas del periodo de incubación para la *Candida albicans*. El extracto etanólico de *Urtica dioica* (Ortiga negra) presentó actividad antibacteriana a la concentración del 50 % en sensidisco húmedo a las 24 horas de su período de incubación para el microorganismo de *Pseudomona aeruginosa* y para el *Staphylococcus aureus* el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* presentó actividad antimicrobiana a la concentración del 80 % en sensidisco húmedos a las 24 horas de incubación. <sup>(51)</sup>

**Gordillo F. (2018)**, en su investigación “Estudio farmacognóstico de los Productos Naturales procesados de uso medicinal de *Urtica dioica* L (*ortiga*) y de su extracto vegetal”. Su objetivo principal es realizar el estudio farmacognóstico de los productos naturales procesados de uso medicinal (PNPUM) en forma farmacéutica sólida a base *Urtica dioica* y de sus extractos vegetales de las especies *Urtica urens* L. y *Urtica leptophylla* Kunth, realizando primero la recolección y la identificación taxonómica de la especie estudiada y además analizar el control de calidad mediante la determinación de pérdida de secado, cenizas totales, cenizas insolubles en HCL; incluyendo a los PNPUM donde se evaluó parámetros físicos, químicos y microbiológicos de calidad. Los extractos vegetales de las especies de *Urtica* se realizaron por la técnica de percolación con etanol para su posterior determinación del tamizaje fitoquímico y medición

espectrofotométrica de flavonoides y fenoles, además se realizó la cromatografía de las especies vegetales y de los PNPUM para realizar la comparación. Los resultados que se obtuvieron de forma estadística indican que el material vegetal cumple con todos los requerimientos a diferencia de los PNPUM los parámetros físicos no se cumplen en su totalidad, sin embargo, para los productos B3 y B4 se cumplen los parámetros microbiológicos. Se obtuvieron por tamizaje fitoquímico la presencia de flavonoides, fenoles, glicósidos cardiotónicos, esteroides y triterpenos; en cuanto al perfil cromatográfico las muestras A1, A2, B1, B2 y B4 evidencian el  $\beta$ -Sitosterol y el ácido clorogénico y las muestras A1, A2, B3 y B4 lupeol, y la escopoletina se encuentran en todas. <sup>(20)</sup>

**Freire K. (2017)**, realizó el estudio del “Usos de dos métodos de extracción fitoquímica a base de Jengibre (*Zingiber officinale* L.), Oreganón (*Plectranthus amboinicus*) y Ortiga (*Urtica dioica*), para el control in vitro de la monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par)”. Se evaluó dos tipos de métodos; por infusión y maceración, para la extracción fitoquímica de tres especies vegetales Jengibre (*Zingiber officinale* L.), Oreganón (*Plectranthus amboinicus*) y Ortiga (*Urtica dioica*), para el control in vitro del hongo de la monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par), utilizando un diseño experimental al azar, con el objetivo de determinar el extracto más eficaz para el control del microorganismo en estudio. Los resultados obtenidos mostraron que el método de extracción por maceración de Ortiga (*Urtica dioica*) resultó ser más eficiente para el control in vitro de la monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par), predominando sobre los demás por presentar un crecimiento de su halo de 12,75 mm a 168 horas de siembra frente al hongo,

el mayor porcentaje de inhibición en el método de infusión fue de 76,69 % y en cuanto al extracto el más eficiente fue el de la ortiga con un 84,09 % de inhibición.

(19)

## **2.2. Bases Teóricas**

### **2.2.1. Ortiga**

#### **2.2.1.1. Familia Urticaceae**

Posee alrededor de 45 géneros y 1000 especies distribuidas en diferentes partes del mundo, pero mayormente concentradas en el continente de Asia. En el Perú se encuentran alrededor de 10 géneros y 87 especies entre hierbas, arbustos y árboles <sup>(25)</sup>. Algunas se encuentran en regiones templadas, pero por lo general se localizan en sitios húmedos <sup>(50)</sup>.

#### **2.2.1.2. *Urtica urens* L.**

La Ortiga es una planta que ofrece la medicina tradicional desde épocas remotas. En Grecia era llamada “acalyphe” y en Latinoamérica “urtica” deriva del término *urere* que significa “quemar”, esto se debe a los pelos urticantes que contienen la presencia de histamina, serotonina, acetilcolina y el ácido fórmico que genera una quemazón con el contacto directo a la piel, que hasta los ciegos la reconocerían con solo rozarla considerándose “la hierba de los ciegos” <sup>(30)</sup>. Los egipcios, los romanos y británicos aprovecharon el efecto de la quemazón como terapia para dolencias artríticas, paralíticas, reumatismos, estimulando la circulación de las articulaciones y extremidades, considerándose el uso medicinal más antiguo <sup>(21)</sup>.

Dioscórides aprecia sus virtudes y aplicaciones de la planta. Lonicero describió la eficacia de la planta en calmar los malestares de los ciclos menstruales de las mujeres, la expulsión de gases y cálculos y además para combatir tumores y úlceras. En 1532, el botánico Otto Brunfels describió en su libro "Contrafayt Kreuteerbuch": "qué hay de tan insignificante, de tan despreciable o de tan detestable en una ortiga. Qué hay de más gracioso que un jacinto, un narciso o un lirio y, sin embargo, la ortiga los supera a todos" <sup>(30)</sup>.

Las variedades de la planta son distinguibles por su comportamiento terapéutico análogo, siendo la ortiga mayor y menor las más valoradas en la fitoterapia. Cabe señalar que las hojas de ortiga son comestibles y son utilizadas en sopas y consumida como verdura <sup>(36)</sup>.

#### 2.2.1.3. Uso y Propiedades atribuidos a la *Urtica urens* L. (Ortiga)

Las hojas, flor, semilla, raíz y tallo se utilizan de distinta manera y contienen diferentes componentes químicos, dependiendo del uso que se le da se le atribuye presentan bondades medicinales como: estimulante en el aparato digestivo y problemas antidiarreicos protegiendo el hígado contra enfermedades hepáticas y favorece la función de la vesícula biliar <sup>(43)</sup>.

Según Moscoso M. (1997) la planta es hemostática, con la propiedad de parar las hemorragias, detiene los casos de metrorragia (hemorragia localizada en el útero fuera del ciclo menstrual, dismenorrea en la menstruaciones dolorosas y trastornos en la menopausia y la hemoptisis. Favorece el buen funcionamiento del aparato digestivo; del páncreas, estómago y vesícula biliar

favoreciendo la buena digestión gracias a la histamina presente en los pelos urticantes.

La inflorescencia es útil para el tratamiento de dolencias como inflamaciones de músculos y tendones, y el reumatismo. Estimula la producción de orina, por sus altas concentraciones de potasio, clorofila y ácidos orgánicos, atribuyéndola como un buen diurético y depurativo; ayuda a combatir la hidropesía, edema o retención de líquidos y el sobrepeso <sup>(36)</sup>.

*Urtica urens* es útil para calmar malestares de dolor en la espalda, artritis, afecciones de la sangre y nervios, tratamiento de nublación de la vista, palpitaciones y dolor de cabeza. El uso de sus hojas en infusiones sirve para tratar reumatismo <sup>(21)</sup>. Las hojas tiernas de ortiga son usadas como cataplasmas y vendajes y las hojas frescas son útiles para los pacientes que padecen diabetes, cálculos biliares, gota, etc. <sup>(36)</sup>.

La Comisión Europea aprobó el uso interno de la planta y sus hojas como terapia alternativa de irrigación para las enfermedades inflamatorias del tracto urinario inferior y prevención en el tratamiento de la insuficiencia renal. Uso interna y externa: para los malestares reumáticos <sup>(2)</sup>.

Un estudio realizado en Egipto por Seadwy, et al. (2018) reporta que la especie de *Urtica urens* L. posee actividades farmacológicas como antioxidantes, citotóxicas, antimicrobianas, antiulcerosas, antiinflamatorias y antihiperglicemiante.

#### 2.2.1.4. Distribución geográfica

La Ortiga es cosmopolita, ya que, por su gran variedad de especies, crece en regiones altas que abarcan desde Europa, Asia y distribuida hasta América del Sur (Bolivia, Ecuador, Argentina, Chile, Uruguay y Argentina). En el Perú por la variedad de pisos ecológicos, se naturaliza en la Costa, Sierra y Selva.

Esta especie suele crecer como mala hierba en los huertos o matorrales de los cultivos, en terrenos húmedos y baldíos en tierras cercanas a las rutas y a las veras de ríos; favoreciendo su desarrollo, en especial si el suelo tiene una buena cantidad de compuestos nitrogenados <sup>(30,33)</sup>.

#### 2.2.1.5. Descripción Botánica



**Figura 2.1. Partes de la Ortiga**  
**Fuente: Lezaeta, A. 2005**

Es una planta herbácea, en forma de arbusto, erecta, de color verde oscuro. Alcanza una altura aproximada de 10 - 50 cm, cubierta de numerosos pelos urticantes <sup>(20)</sup>. Se muestra en la Figura 2.1.



- Hojas opuestas, las maduras son en forma ovalada, mientras que las hojas jóvenes en forma puntiaguda; color verde grisáceo, cubiertas de pelillos urticantes de 4 – 5 cm de longitud con estípulas libres, lineares o casi triangulares. Son carnosas, peciolada, aserrada, en forma de corazón con un diámetro de 70 mm. En la superficie presenta los pelos urticantes, sus nervaduras son profundas de aspecto abollonado de color verde oscuro <sup>(46)</sup>.
- Inflorescencia unisexual agrupada en pequeños glomérulos no alargados <sup>(50)</sup>.
- Flores pequeñas, color verde o lila, agrupándose en espigas ramificadas y axilares; tanto sus flores masculinas y femeninas está separadas en racimos. Las flores masculinas presentan 4 estambres, un perigonio con 4 tépalos y pelos en la cara superior, 4 estambres opuestos al tépalo, filamentos elásticos, cubiertos en forma de capullo. Las flores femeninas poseen un perigonio de 4 tépalos entre 2 grandes y 2 pequeños, con un carpelo con 1 solo óvulo y un estigma.
- Raíz es perenne, de color marrón grisáceo aproximadamente 5 mm de espesor, fibrosa y difícil de quebrar.
- Tallos son erectos, cuadrangular de color rojizo que pueden en ocasiones ser fibrosos, cubierto de pelos urticantes.
- Fruto con una semilla, aquenio ovoide comprimido seco, color verde amarillento de 2mm <sup>(46)</sup>.

#### 2.2.1.6. Nombres atribuidos a la especie vegetal

La *Urtica urens* L. se utiliza como sustituto de *U. dioica*. Es conocida con los nombres de Ortiga menor, Ishanga, Ortiga negra, Ortiga silvestre <sup>(30)</sup>.

#### 2.2.1.7. Clasificación Taxonómica de la *Urtica urens* L. (Ortiga negra)

Según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988), la ortiga presenta la siguiente clasificación:

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: HAMAMELIDAE

ORDEN: URTICALES

FAMILIA: URTICACEAE

GÉNERO: *Urtica*

ESPECIE: *Urtica urens* L.

Nombre Vulgar: “**ortiga negra**”

Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Según constancia: **N° 004 – USM – 2019**

#### 2.2.1.8. Composición química

La *Urtica urens* L. poseen una gran variedad de componentes químicos, en diferentes fragmentos de la planta:

- **Hojas:** Clorofila a y b en un promedio de 2,5 – 3 %; carotenoides como el  $\beta$ -caroteno. Flavonoides como el Quercetol, Kenferol y ramnetol de 0,7 – 1,8 %, cumarinas. Sales minerales en un 20 % (Hierro, calcio, sílice, azufre, manganeso, potasio). Ácidos orgánicos (cafeico, clorogénico, gálico, fórmico, acético), Provitaminas: A, B, C y K, Mucílagos como el Sitosterol

(36).

- **Tricomos:** los pelos urticantes poseen acetilcolina, histaminas, serotonina (5-hidroxitriptamina), ácido acético, aceites volátiles cetónicos y el que provoca la quemazón cutánea el ácido fórmico.
- **Raíces:** presencia de taninos, Fitosteroles ( $\beta$ - Sitosterol en proporciones de 0.03 – 2.00 %), Ceramidas, Lectina (globulina de la urtica dioica), Polifenoles, Polisacáridos: Glucanos,  $\beta$ - D- glucósidos (0.003%), Glucogalacuronanas.
- **Semillas:** proteínas, mucílagos, aceites (30%), ácido linoleico en una 73.7%, Tocoferoles.

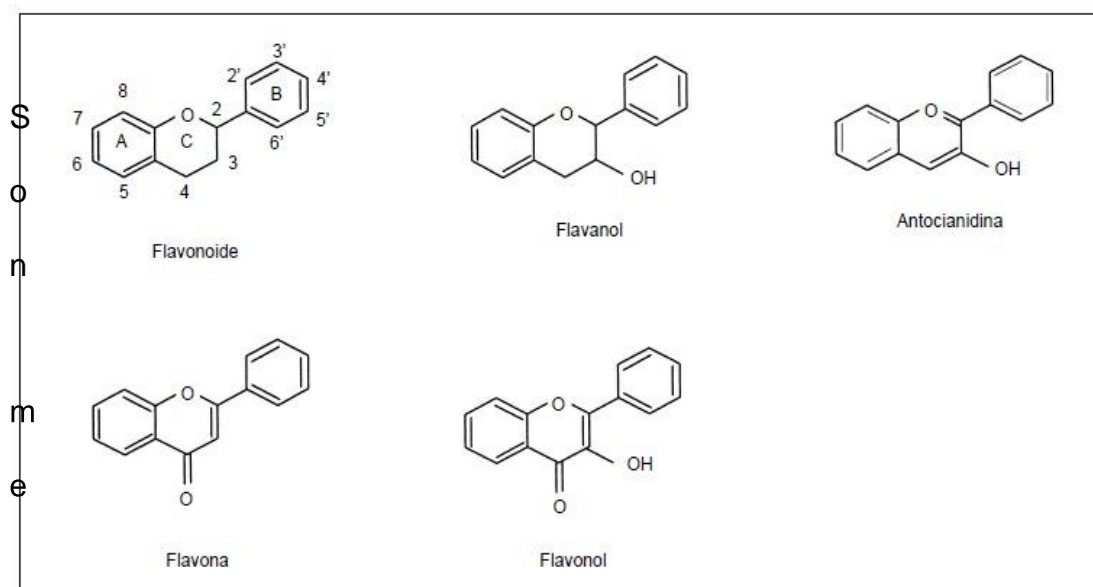
#### 2.2.1.9. Metabolitos de la *Urtica urens* L. (Ortiga)

El gran porcentaje de principios activos, está agrupado en los productos naturales o llamados metabolitos secundarios, compuestos químicos complejos atribuidos a las plantas.

### 1. Compuestos Fenólicos

Son un grupo de metabolitos que pueden proceder de la ruta del ácido shiquímico (fenoles, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos, flavonoides, antocianinas y taninos) o de la ruta del acetato o ácido mevalónico (antraquinonas y heterósidos antracénicos), poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, y frecuentemente están como glicósidos y combinados con unidades de azúcar. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua. Los compuestos fenólicos más importantes son los flavonoides, taninos, cumarinas y quinonas.

## 2. Flavonoides



**Figura 2.2. Flavonoides. Estructura básica y tipos**

**Fuente: Gonzales 2008**

tabolitos polifenólicos de origen biosintético (procedentes de la ruta del ácido shiquímico y la ruta de los policétidos), presentes en los vegetales con estructura de 15 átomos de carbono tipo C6-C3-C6 con dos anillos aromáticos (bencénicos A y B) unidos entre sí por una cadena ciclada de 3 carbonos a través de un oxígeno.

Su solubilidad depende de la forma como se encuentren; en forma aglicones libres o heterósidos siendo los aglicones insolubles en agua, poco soluble en mezcla hidroalcohólica y solubles solventes polares como (etanol, metanol) y apolares (éter etílico, cloroformo); se identifican por cromatografía de capa fina (CCF) y revelado UV <sup>(3)</sup>.

En función a la estructura que presenta, se clasifica:

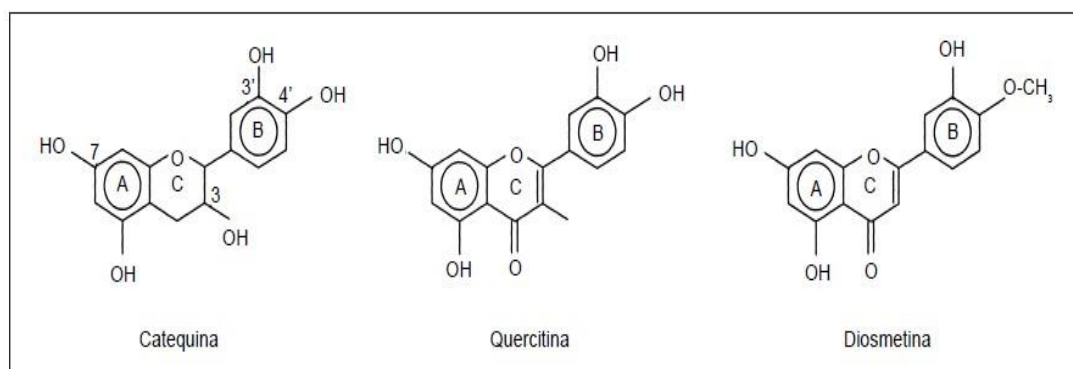
- Flavanos: con grupo -OH en la posición 3 del anillo C, como la catequina.

- Flavonoles: posee un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo -OH en la posición 3 del anillo C, como la quercetina.
- Flavonas: posee un grupo carbonilo en la posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3, como la diosmetina.
- Antocianidinas: presentan el grupo -OH en posición 3 y además un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.

Estos compuestos se encuentran en mayor proporción en las hojas y en el exterior de ellas, además se encuentran en extractos de plantas como arándanos, ginkgo biloba, cardo, mariano o crataegus.

Los flavonoides se usan como colorantes de lana, actualmente se utilizan en preservación de grasas o jugos de fruta por su acción antioxidante. Su acción farmacológica es diversa y variada; disminuyen la permeabilidad de los capilares sanguíneos, dilatadores coronarios, espasmolítico y antihepatotóxica.

Se puede destacar la actividad antimicrobiana de flavonoides prenilados y otros fenoles y la acción fungitóxica de las isoflavonas <sup>(58)</sup>. Se identifican aproximadamente más de 5000 flavonoides, de los que se menciona:



**Figura 2.3. Tipos de Flavonoides**

- Citroflavonoides: quercetina, hesperidina, rutina, naranjina y limoneno.
- Flavonoides de soja o isoflavonoides: presentes en la soja como tofu, leche, harina.
- Proantocianidinas: en semillas de uva, vino y extracto de corteza del pino.
- Antocianidinas: presentes en cereza dando coloración roja y roja. Azulada.
- Catequina: té verde y té negro.
- Kaemferol: brócoli, rábanos y remolacha.

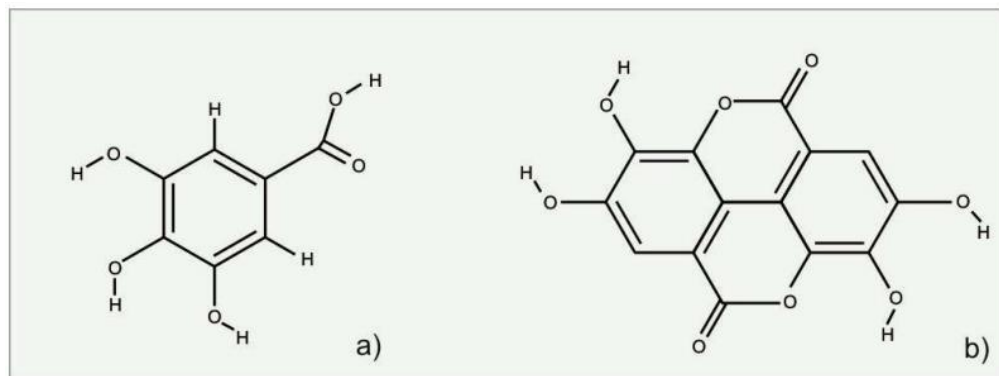
### 3. Taninos

Son un grupo de compuestos con estructura polifenólicos, solubles en agua, alcohol y acetona; poco soluble en éter, con sabor amargo y astringente y con la propiedad de curtir la piel (no permitiendo que se pudra y sea impermeable; por la capacidad de unir macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas). Representan una clase de polímeros fenólicos vegetales con propiedades de defensa frente a microorganismos como hongos o bacterias, muchos árboles contienen taninos en la parte central para evitar que se pudran. La definición se usó por primera vez para describir a los compuestos que podían transformar la piel animal en cuero, conocido el proceso como curtido

(59).

Se distinguen dos grupos; por su estructura como por su origen biogénico: los taninos hidrolizables y los taninos condensados (llamados taninos catéquicos o proantocianidinas).

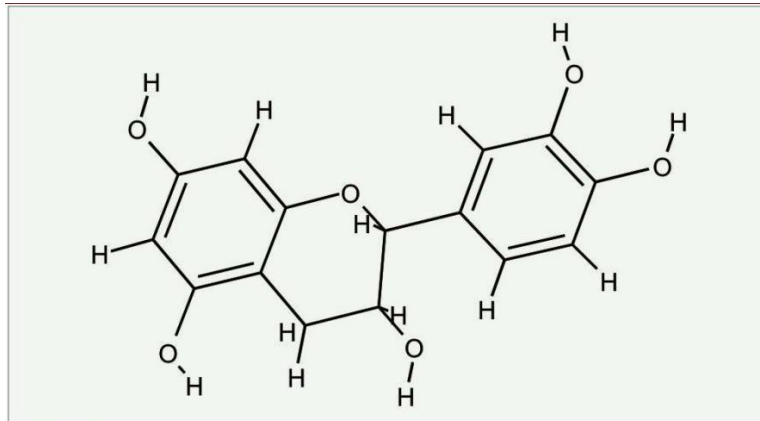
- Taninos hidrolizables: llamados gálicos o pirogálicos. Son poliésteres formados azúcar en su mayoría de glucosa, unidas por moléculas de ácidos fenólicos. Se hidrolizan en medio ácido o básico o por hidrólisis enzimática. Se encuentran en su mayoría en plantas dicotiledóneas. Su principal representante es el ácido gálico o su dímero el ácido elágico. Se detecta los taninos hidrolizables con cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) evidenciando una coloración azul <sup>(3)</sup>.



**Figura 2.4. a) Ácido gálico; b) Ácido elágico**

**Fuente: Álvarez, J. 2007**

- Taninos condensados: llamados catéquicos o proantocianidinas, se conocen como no hidrolizables por ser resistentes a la hidrólisis. Se forman por condensación de catequinas o catecoles (tipo deflavanoles) unidos a C-C entre moléculas, en 4 a 8 o 4 a 6 y no presentan azúcares en su estructura. Los taninos proceden del metabolismo de los flavonoides, se forman a partir de una flavanona por hidroxilación en el carbono tres.



**Figura 2.5. Estructura Flavan-3-ol**

**Fuente: Álvarez J. 2007**

Los taninos condensados al reaccionar con el cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), presentan una coloración verde.

La capacidad de inhibir el crecimiento antibacteriano se debe a la interacción de su estructura sobre adhesinas y polisacáridos <sup>(21)</sup>.

#### **4. Quinonas**

Son compuestos aromáticos como el benceno, naftaleno, antraceno y fenantreno; con dos grupos cetónicos que se forman por la oxidación de fenoles <sup>(3)</sup>. En forma natural presentan una coloración amarilla casi negro, se encuentran en corteza, madera y raíces de plantas; algunos casos se localizan en las hojas, dándole la coloración a la planta. Se distribuyen ampliamente en la naturaleza y su empleo en la medicina es notorio: la 2-metil-1,4-naftoquinona un tipo de vitamina K, utilizada para combatir enfermedades que causan reducir la coagulación en sangre <sup>(59)</sup>.



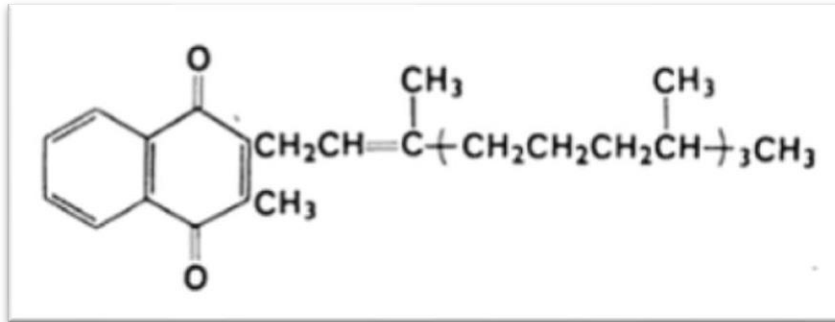


Figura 2.6. 2-metil-1,4-naftaquinona (Vitamina K)

Fuente: Yáñez, G. 2014

Por la complejidad química se clasifican en: Benzoquinonas (monocíclicas), Naftoquinonas (bicíclicas), Antraquinonas (Tricíclicas).

- Benzoquinonas: derivadas del benceno. Ejemplos: embelina, rapanona y primina.
- Naftoquinonas: derivadas del naftaleno. Ejemplos: plumbagina, juglona de nogal (*Junglans regia*), etc.
- Antraquinonas: derivadas del antraceno, presentan actividad de laxantes. Ejemplos: barbaloina, alizarina y crisofanol.

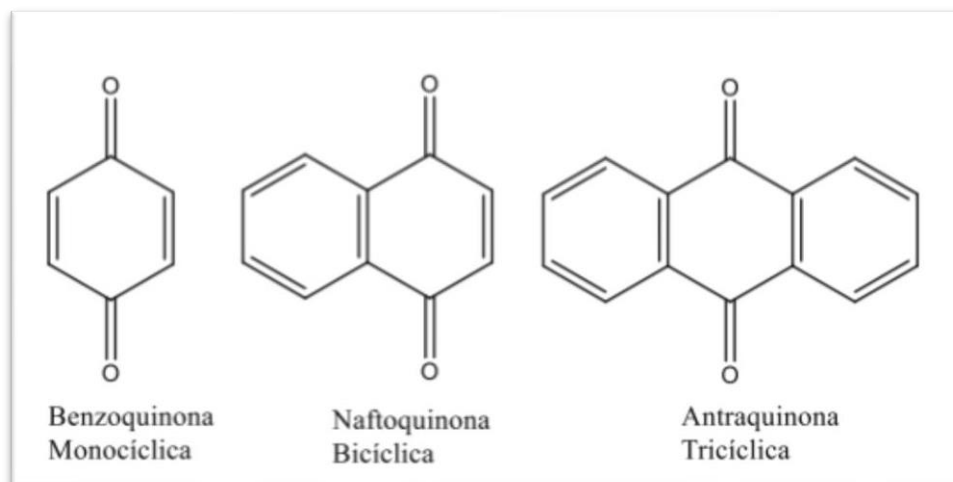


Figura 2.7. Clasificación de las quinonas

Fuente: Loredo, S. et al. 2015

Las quinonas actúan como adhesinas sobre la superficie de bacterias, sobre polipéptidos y enzimas ligadas a membranas.

## 5. Terpenos y Terpenoides

Los aceites esenciales son compuestos químicos que en proporción están presentes en los terpenos y terpenoides. Están formados por unidades de isopreno, dos isoprenos forman una unidad de terpeno. El isopreno es un metabolito secundario que se forma por la ruta del ácido mevalónico, uniéndose a unidades de C<sub>5</sub>. Estos compuestos son abundantes y diversos, podemos encontrarlos en árboles de bálsamo, frutos cítricos, eucalipto. Hierba luisa, partes de planta como raíces, rizomas tallos, hojas, frutos y semillas, y característico de presentar olor y sabor, con propiedad farmacológica presente en los terpenos.

- Los terpenos al oxidarse químicamente, al reagrupar su esqueleto hidrocarbonado se denominan “terpenoides” como ejemplo nombramos: la vitamina A o retinol.
- Los terpenoides en su mayoría se encuentran en las plantas; los monoterpenos y sesquiterpenos se encuentran en aceites esenciales, son no volátiles y se obtienen de la savia de plantas y árboles.

Los diterpenos y triterpenos son no volátiles, se obtienen de gomas y mucílagos; los tetraterpenoides son el grupo de los carotenoides <sup>(59)</sup>.

## 6. Alcaloides

Son compuestos orgánicos nitrogenados heterocíclicos, formados por carbono, hidrógeno, algunos llevan oxígeno, con propiedades básicas (por presencia del nitrógeno) y físicas (sólida, cristalizables) y en su mayoría son de origen vegetal <sup>(3)</sup>.

Se forman a partir de los L-aminoácidos: arginina (ornitina), lisina, triptófano, fenilalanina y tirosina.

Su estructura es muy compleja y ejercen acción fisiológica en concentraciones muy bajas. Son de sabor amargo, solubles en alcohol, en solventes como el éter, cloroformo o hexano, poco solubles en agua.

Es uno de los grupos de metabolitos encontrados en diversas partes de seres vivos y se forman de un conjunto de estructuras, rutas biosintéticas y actividades farmacológicas. Su actividad biológica es extensa, jugando un rol en las plantas pueden localizarse en tejidos periféricos de corteza, raíces, hojas, frutos y semillas <sup>(59)</sup>; además pueden proceder de bacterias, insectos y otros animales.

Según sus características, algunos autores han clasificado los alcaloides en cuatro grupos:

- **Alcaloides verdaderos:** poseen la estructura de un alcaloide: formados a partir de aminoácidos, presentan un nitrógeno heterocíclico en su estructura, de carácter básico y están presentes en forma de sal. Ejemplos: la cocaína.
- **Protoalcaloides:** son aminas simples cuyo nitrógeno no forma parte de su estructura heterocíclica; proceden del metabolismo de aminoácidos. Ejemplos: la efedrina y la colchicina.
- **Pseudoalcaloides:** poseen la característica de un alcaloide verdadero por presentar un anillo heterocíclico, pero no derivan de los aminoácidos. Ejemplo: la aconitina (alcaloide terpénico) y lasolanidina (alcaloide esteroide).
- **Alcaloides imperfectos:** son derivados de bases púricas; no se evidencian con los reactivos que determinan alcaloides <sup>(4)</sup>.

Según su precursor biogénico (aminoácidos) se agrupan dependiendo de la molécula de la que parte su síntesis, los derivados de alcaloides se clasifican en:

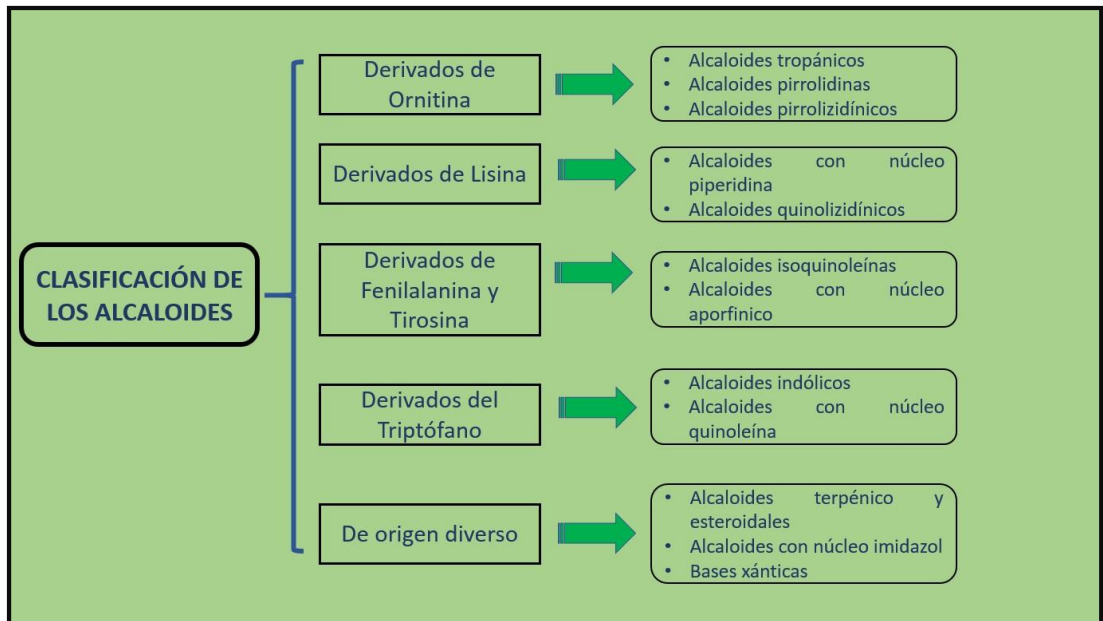


Figura 2.8. Clasificación de los alcaloides

Fuente: Propia

Se utilizan diversos reactivos para detectar los alcaloides como: solución yodo-yoduro de potasio (reactivo Wagner), mercurio tetrayoduro de potasio (reactivo Mayer), tetrayodo bismuto de potasio (reactivo de Dragendorff), solución de ácido pícrico (reactivo Hager), ácido sílico túngtico (reactivo de Bertrand), (reactivo de Ehrlich), nitración de alcaloides de la reacción Vitali-Morin se usa para alcaloides en estado base <sup>(4)</sup>.

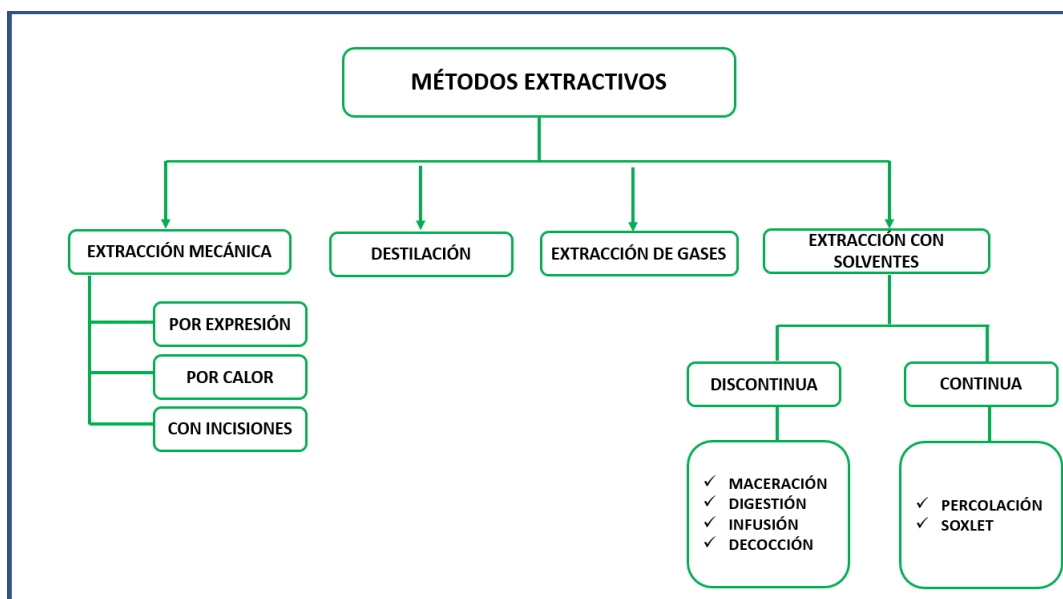
### 2.2.2. Extracto vegetal

Es la preparación líquida, sólida o semisólida que se obtiene de la mezcla de determinados solventes (agua, etanol, acetato de etilo, alcohol, etc.) en las hojas, tallos, flores o raíz de la planta, formándose un poderoso activo medicinal por los principios activos presentes en las plantas.

### 2.2.3. Métodos de Extracción a partir de plantas vegetales

La extracción es uno de los procesos utilizados en el ámbito farmacéutico, consiste en la separación de las porciones medicinalmente activas a partir de los tejidos de plantas y animales, de los componentes inertes utilizando un solvente adecuado, aplicando procedimientos establecidos y estandarizados <sup>(31)</sup>.

**Tabla 2.1. Métodos de Extracción**



Fuente: Kuklinski, C. 2000

#### 2.2.3.1. Maceración

Consiste en poner en contacto la droga vegetal con el solvente utilizado para solubilizar los principios activos, se realiza a temperatura ambiente. El

proceso de maceración es dejar la droga vegetal en contacto con el solvente por varios días, realizando agitaciones continuas y constante. Los solventes utilizados son: glicerina, alcohol, agua, dependiendo de la mezcla a utilizar. Es muy utilizada cuando los principios activos son solubles y la estructura vegetales permeable al solvente (hojas, flores), además cuando los principios activos son termolábiles, ya que se trabaja a temperatura ambiente. Se usan frascos de vidrio ámbar, tanto para la extracción y el envasado.

#### **2.2.4. Tamizaje fitoquímico**

Conocido como screening fitoquímico, es la determinación de forma cualitativa para identificar compuestos o metabolitos presentes en vegetales. Se han desarrollado diversas técnicas para identificar los constituyentes químicos con el uso de solventes y la determinación de las reacciones de coloración <sup>(34)</sup>.

#### **2.2.5. Actividad antibacteriana**

Los antibióticos son sustancias producidas por diferentes microorganismos que son utilizados para eliminar o inhibir el crecimiento de estos, siendo los compuestos orgánicos de origen biológico, compuestos sintéticos producidos por síntesis química o semisintéticos cuando a partir de un núcleo básico se modifican ciertas características <sup>(9)</sup>.

Según su efecto se clasifican en:

- CMI: concentración inhibitoria mínima.
- CBM: concentración bactericida mínima.

**Bacteriostático:** Son aquellos cuya concentración sanguínea excede la CIM, pero no supera la CBM inhibiendo el crecimiento y multiplicación de los microorganismos.

**Bactericida:** son los que alcanzan concentraciones en sangre, esta excede la CBM produciendo la muerte de los microorganismos <sup>(18)</sup>.

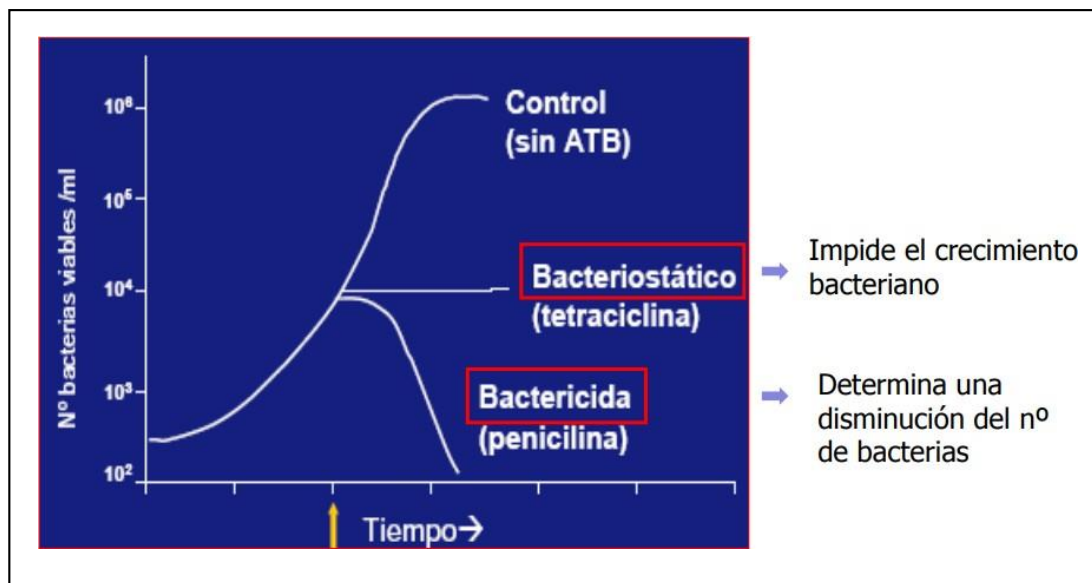


Figura 2.9. AB: Mecanismo de acción

Fuente: Figueroa, C. (2016)

#### 2.2.5.1. Lugar de Acción de los Antibióticos

##### a) Inhibición de la síntesis de la pared celular

Por lo general son bactericidas. Todas las bacterias que poseen pared celular externa sirven de protector para la membrana celular e impide su ruptura, en el interior existe una presión osmótica, la cual es de tres a cinco veces mayor para bacterias gran positivas que para grandes negativas, por ello, cualquier lesión o inhibición provoca en la bacteria la

muerte y estos son:  $\beta$ -lactámicos, fosfomicina, cicloserina, vancomicina, bacitracina <sup>(9)</sup>.

### b) Desorganización de la membrana citoplasmática

La membrana citoplasmática controla el medio interno de la célula, esta actúa como barrera selectiva de la permeabilidad y lleva a cabo funciones de transporte activo, por lo tanto, las sustancias que la modifiquen causan efecto lítico en la bacteria y estas son: polimixinas, anfotericina B y nistatina.

### c) Inhibición de la síntesis de proteínas

Ejercen un efecto bacteriostático con excepción de los aminoglucósidos que son bactericida esto puede ser porque tienen otro mecanismo de acción, como este proceso se lleva a cabo en el ribosoma existen 3 etapas: iniciación, elongación y terminación entre ellas encontramos a: tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, lincosaminas y aminoglucósidos.

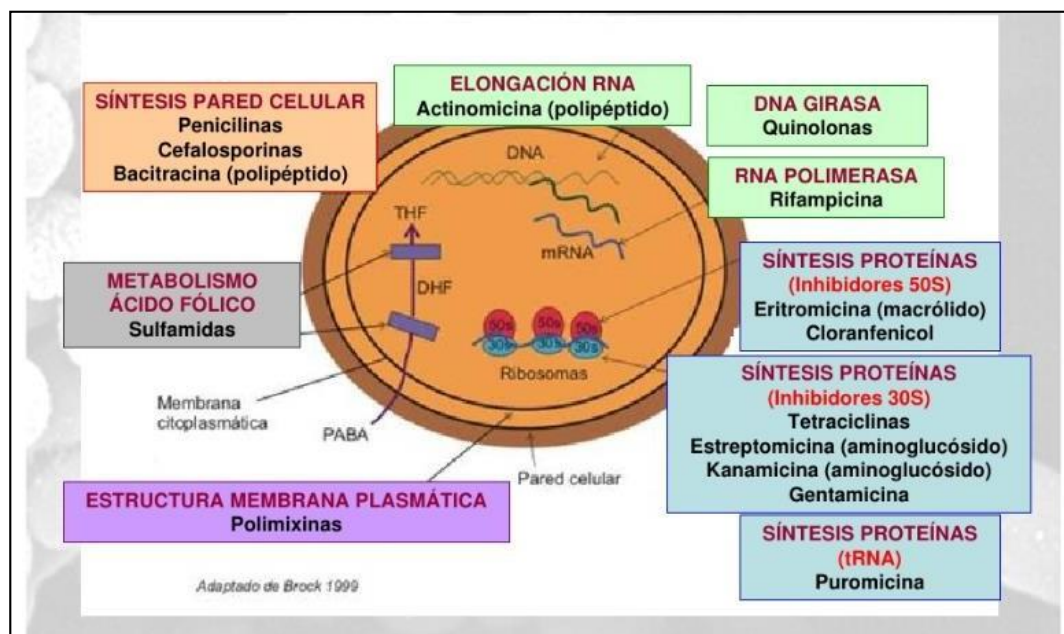


Figura 2.10. Mecanismo de acción de los antibióticos y su blanco

Fuente: Brock (1999)



#### d) Interferencia en la síntesis y/o el metabolismo de ácidos nucleicos

Pueden ejercer su acción mediante 3 formas: por interferencia en la replicación del ADN, impidiendo la transcripción y por la inhibición de síntesis de metabolitos secundarios y entre ellas tenemos: rifampicina, quinolonas, metronidazol y antivíricos.

#### e) Antimetabolitos que bloquean la síntesis de ácido fólico

Son moléculas estructuralmente análogas a los metabolitos secundarios que compiten por unirse a enzimas que actuaran sobre ellos impidiendo la formación de ácido fólico, por inhibición competitiva y entre ellas encontramos a: sulfamidas, sulfonas, pirimetamina y trimetoprima <sup>(9,16)</sup>.

### 2.2.6. Enfermedades de transmisión alimentaria (ETA)



Figura 2.11. Enfermedades de transmisión alimentaria

Fuente: OMS (2015)

La OMS define a las ETA como “Enfermedad de carácter infeccioso o tóxico que es causada, por el consumo de alimentos o de agua contaminada”. Pero la presencia del patógeno no significa que se dará la enfermedad ya que en la mayoría de casos de ETA también se considera <sup>(5,6)</sup>:

- La suficiente cantidad del patógeno presente como para causar la infección o producir toxinas.
- El alimento debe ser capaz de favorecer el crecimiento del patógeno o características propias que favorecen su crecimiento.
- El alimento debe de presentar otras condiciones para su multiplicación y/o producción de toxinas.
- El consumo debe ser lo suficiente como para sobrepasar la barrera de susceptibilidad del individuo.

#### 2.2.6.1. Clasificación

Las ETA pueden clasificarse en: infecciones, intoxicaciones o infecciones mediadas por toxinas.

- **Infección:** se produce por la ingesta de microorganismos patógenos en los alimentos, por ejemplo: *E. coli*, *Salmonella*, virus de la Hepatitis A, *Triquinella spirallis*, entre otros.
- **Intoxicación:** se produce por la ingesta de toxinas presentes en los alimentos, por ejemplo: toxina botulínica, enterotoxina de *Staphylococcus* o por la ingesta de microorganismos que producen toxinas una vez ingeridos, Por ejemplo: cólera, gastroenteritis por *C. perfringens* <sup>(5,6)</sup>.

#### 2.2.7. *Escherichia coli*

Es un bacilo coliforme originalmente llamado *bacillus coli commune* por Theodore von Escherich en 1885. Es la bacteria más frecuente e importante del

género escherichia, asociada a múltiples enfermedades como la gastroenteritis, ITU, meningitis y sepsis <sup>(29)</sup>.

Desde el punto de vista taxonómico se clasifica:

**Phylum:** Proteobacteria

**Clase:** Gamma Proteobacteria

**Orden:** Enterobacteriales

**Familia:** Enterobacteriaceae

**Género:** Escherichia

**Especie:** *Escherichia coli*

#### 2.2.7.1. Características

Es un bacilo Gram negativo, que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, no es formador de esporas, fermentador de la lactosa y glucosa. La bacteria es mesófila por su desarrollo entre 35 – 43 °C, con un tamaño promedio de 1,1-1,5 µm de ancho y 2,0-6,0 µm de largo. De acuerdo a sus requerimientos de oxígeno es anaeróbico facultativo, móvil por flagelos peritricos, produce vitaminas B y K y puede presentar plásmido o sobrevivir sin él. <sup>(6,15)</sup>

Se coloniza en pocas horas después del nacimiento en el intestino del hombre y es considerada como el microorganismo de la flora normal, sin embargo, existen cepas patógenas que causan daños produciendo cuadros de diarreas, por la alta presencia en el intestino es considerada indicador fecal en la inocuidad de alimentos y agua. <sup>(6,15)</sup>

### 2.2.7.2. Patogenicidad

| Grupo | Síntomas clínicos  | Epidemiología   |
|-------|--|---|
| ETEC  | Diarrea aguda acuosa   | Niños menores de dos años y diarrea del viajero                     |
| EHEC  | SUH, CH, diarrea sin sangre, dolor abdominal, fiebre, vómito                       | Niños y adultos que la adquieren por comer carne cruda o mal cocida |
| EIEC  | Diarrea con moco y sangre o diarrea acuosa, también se presenta cuadro disentérico | Niños menores de seis meses   |
| EPEC  | Diarrea aguda, dolor abdominal, vómito, fiebre baja                                | Niños menores de seis meses hasta dos años                          |
| EAEC  | Diarrea líquida, verde con moco, sin sangre, diarrea persistente hasta 20 días     | Recién nacidos y niños menores de dos años                          |
| DAEC  | Diarrea acuosa sin sangre  | Niños de 1 a 5 años   |

**Figura 2.12. Grupos de *Escherichia coli* causantes de diarrea**

**Fuente: Rodríguez, G. (2002)**

Comprenden dos grandes grupos de *E. coli* patógenos según el tipo de infección ocasionada. Un grupo está conformado por las cepas de *Escherichia coli* causantes de infecciones extraintestinales (tracto urinario, sepsis y meningitis neonatal) y el otro grupo conformado por cepas patógenas intestinales, responsables del elevado número de infecciones gastrointestinales. Según esta clasificación, se evidencia seis grupos patógenos <sup>(15)</sup>:

- *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)  
Coloniza el intestino delgado y da paso a la síntesis de enterotoxinas llamada toxina termolabils (LT) y toxina termoestable (ST). causando diarrea del viajero; diarrea acuosa, vómitos, espasmos abdominales,

náuseas y fiebre; afectando principalmente a lactantes y niños menores de 2 años. <sup>(15,29)</sup>

- E. coli enteropatogénica (EPEC)

Su lugar de acción se localiza a nivel del intestino delgado, cuya principal función es la adhesión de las células del epitelio intestinal llevando a la destrucción de las microvellosidades ocasionando una mala absorción, provocando diarrea acuosa que puede ser grave y prolongada y acompañada de fiebre y vómito. En su mayoría se presenta en niños menores de 2 años. <sup>(29,35)</sup>

- E. coli enteroinvasiva (EIEC)

Estas bacterias son capaces de invadir y destruir el epitelio del colon para producir diarreas acuosas, una poca minoría puede evolucionar en forma disentérica, causando espasmos abdominales, presencia de sangre y leucocitos en las heces; la población afectada es niños menores de 6 meses. <sup>(29,35)</sup>

- E. coli enterohemorrágica (EHEC)

Se adhiere en el intestino grueso, destruyendo la microvellosidad intestinal y producción de verotoxinas (VT) causando diarreas sanguinolentas con espasmos abdominales, fiebre que puede ser de leve a moderada y puede progresar al síndrome urémico hemolítico, afectando a adultos y niños. <sup>(29,35)</sup>

- E. coli enteroagregativa (EAEC)

Esta actúa adhiriéndose en el epitelio del intestino delgado y grueso, causando el incremento en la producción y secreción del moco que se aglutina sobre el epitelio intestinal, probando diarrea, fiebre, náuseas, vomito y dolor abdominal, afectando a recién nacidos y menores de dos años. <sup>(29,35)</sup>

#### 2.2.7.3. *E. coli* y contaminación de alimentos

Casi toda la contaminación es de origen fecal. Los seres humanos pueden contraer una infección por esta bacteria por el consumo de agua y alimentos contaminados por heces, pero también por contaminación cruzada o por manipulación del hombre al preparar los alimentos <sup>(37,49)</sup>.

#### 2.2.7.4. Tratamiento

Para el tratamiento de infección por *E. coli* los antibióticos de primera elección son las fluoroquinolonas (ciprofloxacino o levofloxacino) o el cotrimoxazol como alternativa durante 3 días. <sup>(49)</sup>

| Microorganismo   | Tratamiento antibiótico de elección  | Alternativa   |
|--|--|---|
| <b>Salmonelosis</b><br>En inmunodepresión, edades extremas, anemia falciforme<br>Bacteriemia o metástasis sépticas | Levofloxacino p.o<br>Ceftriaxona iv,<br>Aztreonam i.m. / i.v<br>Ceftriaxona iv / im<br>Aztreonam i.v. / i.m<br>Ciprofloxacino i.v. | Amoxicilina p.o. / iv   |
| <b>Fiebre tifoidea</b>   | Ceftriaxona iv./im.<br>Levofloxacino p.o/iv<br>Azitromicina p.o  | Amoxicilina p.o.<br>Ampicilina p.o.<br>Cloranfenicol<br>Cotrimoxazol p.o/iv |
| <b>Shigelosis</b>  | Ciprofloxacino p.o.  | Ceftriaxona iv/im.<br>Cotrimoxazol p.o/iv<br>Azitromicina p.o.              |
| <b>Campylobacter jejuni</b><br>En infección grave recurrente prolongada, inmunodepresión, embarazadas              | Eritromicina p.o.  | Azitromicina p.o.   |
| <b>E. coli</b><br>ECET (diarrea del viajero)<br>ECEI   | Ciprofloxacino p.o.<br>Levofloxacino   | Cotrimoxazol p.o  |
| <b>C. difficile</b>  | Metronidazol p.o/iv  | Vancomicina p.o   |
| <b>V. cholerae</b>   | Doxiciclina<br>Ciprofloxacino p.o.   | Azitromicina<br>Cotrimoxazol p.o  |

*ECEI: E. coli enteroinvasiva; ECET: E. coli enterotoxigénico; iv: endovenosos; p.o: por vía oral*

**Figura 2.13. Tratamiento para Gastroenteritis infecciosa**

**Fuente: Sociedad de Medicina Interna (2008)**

### 2.2.8. Quinolonas

Son un grupo de antibióticos, que aparecieron en el año 1962, cuando Lescher al ensayar nuevos antimaláricos, sintetizó la primera 4-quinolona, nombrada ácido nalidíxico a partir de la cloroquina, el cual fue utilizado, pero de

forma limitada, ya que presentaba poco valor clínico, provocando resistencia. En los años 70 continuaron innovando nuevos adelantos limitados con respecto a anterior como los fármacos: ácido oxolónico, ácido piromídico, ácido pipemídico y cinoxacino, denominados Primera generación <sup>(9,16,18)</sup>.

En 1978 se introduce el norfloxacin, se origina a partir del ácido pipemídico, en el que se añadió un átomo de flúor en la posición 6, mejorando su espectro para microorganismos gram negativos y así mejorar la actividad para su uso clínico. Las quinolonas fluoradas o llamadas fluoroquinolonas fueron desarrollándose con el tiempo apareciendo la pefloxacin, cfloxacin, ciprofloxacina, fleroxacin y temafloxacin; surgiendo la Segunda generación. Con el paso del tiempo surgieron otras generaciones como la tercera y cuarta <sup>(16,18)</sup>.

### 2.2.8.1. Clasificación

| Fluoroquinolonas  |   |  |   |
|---|---|--|---|
| 1a Generación   | 2a Generación   | 3a Generación  | 4a Generación   |
| Ácido nalidíxico (oral)   | Ciprofloxacina (oral, parenteral)   | Levofloxacina (oral, parenteral)   | Balofloxacina (oral)  |
| Ácido oxolónico (oral)  | Enoxacina (oral)  | Esparfloxacina (oral)  | Clinafloxacina (parenteral)   |
| Ácido pipemídico (oral)   | Fleroxacina (oral, parenteral)  | Tosufloxacina (oral)   | Gatifloxacina (oral, parenteral)  |
| Ácido piromídico (oral)   | Lomefloxacina (oral)  |  | Gemifloxacina (oral)  |
| Cinoxacina (oral)   | Norfloxacina (oral)   |  | Moxifloxacina (oral, parenteral)  |
| Flumequina (oral)   | Ofloxacina (oral, parenteral)   |  | Pazufloxacina (oral, parenteral)  |
|   | Pefloxacina (oral, parenteral)  |  | Sitafloxacina (parenteral)  |
|   | Rufloxacina (oral)  |  | Trovafloxacina (oral, parenteral)   |
| Gramnegativos:<br><i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> ,<br><i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> ,<br><i>Serratia</i> , <i>Citrobacter</i> ,<br><i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> | Gramnegativos incluyendo<br><i>Pseudomonas</i> spp Grampositivos:<br><i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> ,<br><i>M. catarrhalis</i> , <i>P. aeruginosa</i> ,<br><i>Acinetobacter</i> , <i>S. maltophilia</i> ,<br><i>Chlamydia trachomatis</i> y<br><i>Mycobacterium</i> spp | Gramnegativos y<br>micobacterias Grampositivos:<br>( <i>Streptococcus pyogenes</i> y<br>neumococo penicilina sensible y<br>penicilina resistente) anaerobios<br>y patógenos atípicos | Bacterias anaerobias:<br><i>Clostridium</i> Grampositivos<br>incluyendo cepas de <i>S. pneumoniae</i> penicilina<br>resistente y <i>S. aureus</i> |

Figura 2.14. Generaciones de las quinolonas

Fuente: Campos, E. et al (2008)



| Sustituyente              | Características   |
|---------------------------|---|
| Radical (R <sub>1</sub> ) | Amplía el espectro contra gramnegativos y mejora algunos efectos farmacocinéticos   |
| Radical (R <sub>2</sub> ) | Se han realizado pocas modificaciones   |
| Radical (R <sub>5</sub> ) | Potencia y mejora actividad contra Grampositivos y algunos efectos farmacocinéticos (incrementa la absorción, distribución) |
| Radical (R <sub>7</sub> ) | Aumenta la potencia a bacterias gramnegativas y mejora la biodisponibilidad   |
| Radical (R <sub>8</sub> ) | Aumenta la actividad anaerobia y aspectos farmacocinéticos  |

Figura 2.15. Relación estructura - actividad de las quinolonas

Fuente: Campos, E. at el (2008)

### 2.2.9. Ciprofloxacino

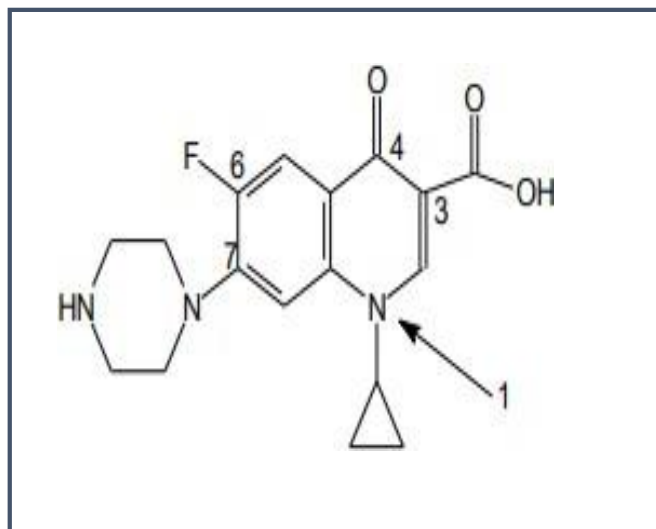


Figura 2.16. Estructura del ciprofloxacino

Fuente: Macías, A. (2017)

Polvo cristalino de color amarillo claro, soluble en agua, con pH 3,7; cuyo nombre químico es el ácido 1-ciclopropil- 6-fluoro-1,4-dihidro4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolincarboxílico; esta posee una estructura bicíclicahetero-

aromática, constituida por un núcleo piridona-β- ácido carboxílico y un anillo aromático. fórmula química del clorhidrato de ciprofloxacino monohidratado es C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>HCl. H<sub>2</sub>O y su peso molecular es de 385,82 g/mol <sup>(57)</sup>.

#### 2.2.9.1. Mecanismo de acción

El ciprofloxacino afecta el funcionamiento del ADN bacteriano inhibiendo la topoisomerasa IV y la ADN-girasa de las bacterianas. Las topoisomerasas alteran el ADN introduciendo pliegues de forma contraria de lo normal y la ADN- girasa tiene dos subunidades que actúan rompiendo las cadenas del cromosoma bacteriano y luego plegándolas, al Inhibir estas dos subunidades se impide la replicación y la transcripción del ADN bacteriano <sup>(9)</sup>.

#### 2.2.9.2. Biodisponibilidad

El ciprofloxacino se administra por vía oral e intravenosa. En dosis orales su biodisponibilidad varia de 60 a 85 % y el tiempo en el que alcance la concentración plasmática máxima dependerá, si el paciente está en ayunas será 0.5 a 2.5 horas, pero cuando se administra después de las comidas se retrasara, no habiéndose afectada la absorción. Después de una dosis oral de 500 mg, las concentraciones plasmáticas son de 1.6-2.9 mg/ml. Después de una dosis intravenosa de 400 mg, las concentraciones son de 4.6 mg/ml. Las concentraciones plasmáticas se mantienen durante 12 horas por encima de las concentraciones mínimas inhibitorias para la mayoría de las bacterias <sup>(57)</sup>.

#### 2.2.9.3. Espectro antibacteriano

Abarca un amplio espectro de microorganismos aerobios Gram-negativos, incluyendo patógenos entéricos: *Pseudomonas* y *Serratia marcescens*. Se puede utilizar en combinación con otros antibacterianos, para el tratamiento de las infecciones por micobacterias como *M. tuberculosis* <sup>(57)</sup>.

#### **2.2.10. Método Difusión en disco (Kirby-Bauer)**

Los métodos para el estudio de sensibilidad antibacteriana in vitro de extractos de plantas son diversos, y los resultados varían de acuerdo a una variedad de factores en su desarrollo; desde la recolección de la planta, tipo de extracto, la cepa utilizada y técnica usada puede influir en el resultado de determinar la actividad antibacteriana.

El método difusión en disco, es un método cualitativo, de fácil estandarización, indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido. Este método está respaldado por datos clínicos y de laboratorio y la ventaja es que es reproducible; se basa en el método descrito por Bauer, Kirby, Sherris & Tuck (1966), y se encuentra avalado por el Subcomité de ensayos de susceptibilidad del NCCLS, de los Estados Unidos para determinar la sensibilidad bacteriana de frente a los antibióticos. Sánchez, E., Castillo, S., & García, P. (2016).

Este método se basa en relación a la concentración de extracto necesario para inhibir una cepa bacteriana y el crecimiento del halo de inhibición en la superficie de la placa de agar con un medio de cultivo.

## **2.3. Hipótesis**

### **2.3.1. Hipótesis general**

El extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra), presenta actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, in vitro.

### **2.3.2. Hipótesis específicas**

- Existen metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra).
- Existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) que presente actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, in vitro.
- Existe similar actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) comparado con Ciprofloxacino, sobre *Escherichia coli*, in vitro.

## 2.4. Variables

### 2.4.1. Tabla de Operacionalización de variables

- **Variable Independiente:**

Extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)

- **Variable Dependiente:**

Actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*

| VARIABLES  | DIMENSIONES    | INDICADORES  | INSTRUMENTO                 |
|--|----------------|--|-----------------------------|
| <b>V.I.</b>  | FITOQUÍMICO    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificación de los metabolitos secundarios.</li> <li>• Concentraciones del extracto:<br/>Concentración al 25%<br/>Concentración al 50 %<br/>Concentración al 75 %<br/>Concentración al 100 %<br/>Ciprofloxacino</li> </ul> | Ficha de observación Ad-hoc |
| Extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) |                |  |                             |
| <b>V.D.</b>  | MICROBIOLÓGICO | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cepas de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)</li> <li>• Medición del diámetro de los Halos de inhibición.</li> <li>• Tiempo de la incubación: 24, 48 y 72 horas</li> </ul>   | Ficha de observación Ad-hoc |
| Actividad Antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i>                   |                |  |                             |

## 2.5. Marco Conceptual

### 2.5.1. Definición de términos

1. **Actividad antibacteriana:** es la acción de un antibacteriano frente a un patógenos. Se clasifica en: bacteriostático; es la concentración de un antibacteriano que inhibe crecimiento microbiano sin destruirlo y bactericida; concentración antibacteriana que destruye el microorganismo.  
(58)
2. **American Type Culture Collection (ATCC):** Cepas certificadas para el control de calidad microbiológico. (22)
3. **Cepa:** células que se proceden de un cultivo puro, generalmente de una sola colonia, aunque no de una sola célula. (22)
4. **Cromatografía:** método que permite la separación de las sustancias presentes de una mezcla, y se divide en dos fases: una fase estacionaria (en forma sólida o líquida) y la fase móvil (en forma definida). Es rápida y bajo costo y permite identificar componentes presentes en un determinado material vegetal.
5. **Difusión en disco:** es el método más conocido como Kirby- Bauer por ser una técnica asequible, que determina la sensibilidad de un patógeno en un microorganismo en estudio y se interpreta como: sensible, intermedio o resistente. (34)
6. ***Escherichia coli*:** bacteria Gram negativo, anaerobia, facultativa, que se localiza frecuentemente en el tracto digestivo; intestino grueso. Las infecciones mayormente son endógenas (flora microbiana propia), sin embargo, la gastroenteritis se produce de manera exógena a causa del consumo de agua o alimentos contaminados como carne. (6)

- 7. Extracto etanólico:** es obtenido por la macerado de una parte de una especie vegetal en solvente de etanol (alcohol etílico). <sup>(31)</sup>
- 8. Halo de inhibición:** zona alrededor del disco del antibiótico, en el que no hay crecimiento bacteriano. <sup>(34)</sup>
- 9. Inhibición bacteriana:** es la formación de los halos de inhibición alrededor de las placas cultivadas en Agar. <sup>(34)</sup>
- 10. In vitro:** técnica que se utiliza fuera del organismo vivo para realizar un experimento sea en tubo de ensayo o área controlada como un laboratorio. <sup>(35)</sup>
- 11. Metabolito secundario:** no ejercen un papel específico en las plantas y sirven para contrastar perfiles químicos y diferenciar entre distintas especies vegetales como: alcaloides, glicósidos, aceites esenciales, etc. <sup>(23)</sup>
- 12. Ortiga (*Urtica urens* L.):** es una planta arbustiva, aspecto tosco, forma erecta y de color verde oscuro; alcanza una altura de 10 – 50 cm, cubierta de numerosos pelos urticantes. <sup>(14)</sup> Es nativa de Europa y cosmopolita ya que por la variedad de especies se distribuye por Asia, Australia hasta América del Sur. Se le conoce con los nombres de Ortiga menor, Ishanga, ortiga negra, ortiga silvestre. Se le atribuye distintas propiedades medicinales como: antipiréticos, antiinflamatorios, analgésico y antibacterianos. <sup>(30)</sup>
- 13. Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)** <sup>(22)</sup>
- 14. Tamizaje Fitoquímico:** etapa inicial de la investigación fitoquímica, que permite la extracción de una parte o total de la especie vegetal con un solvente apropiado para determinar cualitativamente grupos químicos de mayor interés presentes en la planta. <sup>(23)</sup>

**15. Solubilidad:** capacidad de un soluto que se disuelve en un determinado disolvente a una temperatura establecida, se relaciona con la estructura química de ambas y por la polaridad que posee. <sup>(23)</sup>

**16. Unidad formadora de Colonia (UFC)** <sup>(22)</sup>



## CAPITULO III – MÉTODO

### 3.1. Tipo de Estudio

De acuerdo al estudio, las características y el alcance son de tipo:

- **Cuantitativo:** se realizan ensayos utilizando diferentes concentraciones del extracto, para luego proceder a medir los halos microbianos para determinar la actividad óptima que ejercen.
- **Observacional:** se usó la observación por parte del investigador para luego registrar los datos sin intervención en la evolución natural de estos.
- **Transversal:** porque las variables son medidas en un solo período de tiempo, donde se recolecta y procesa la muestra para su medición.

### 3.2. Diseño a utilizar

- **Experimental:** el investigador manipula la variable independiente (extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens*) para tener mayor control y evidenciar la causa- efecto de la actividad que se requiere.

El extracto vegetal se obtuvo por maceración etanólica, para luego proceder a la identificación de los metabolitos secundarios por medio del Tamizaje fitoquímico.

La actividad antibacteriana *in vitro*, se determinó por el método de Difusión en disco conocido como el método de Kirby- Bauer cultivo *in vitro* con la cepa de control: *Escherichia coli* ATCC 25922, analizando el extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. “Ortiga negra” a las concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % respectivamente. Se determinó el porcentaje de inhibición a través de la medición del halo de

inhibición que formado alrededor de los discos conteniendo el extracto etanólico de la muestra en estudio, para determinar su actividad.

### **3.3. Población**

#### **3.3.1. Población vegetal**

Se recolectó las hojas de la especie de vegetal *Urtica urens L.* “Ortiga negra” del distrito de Sillapata, provincia de Dos de Mayo, departamento de Huánuco; en el mes de febrero del 2019.

#### **3.3.2. Población microbiológica**

El estudio se realizó con cepas bacterianas de *Escherichia coli*.

### **3.4. Muestra**

#### **3.4.1. Muestra vegetal**

Se emplearon aproximadamente 2 kg de muestra vegetal de las hojas de la especie de *Urtica urens L* “Ortiga”, que fueron recolectados en el distrito de Sillapata ubicado a 3438 m.s.n.m. de la provincia de Dos de Mayo, departamento de Huánuco, de forma aleatoria; cumpliendo criterios de inclusión y exclusión.

#### **3.4.2. Muestra microbiológica**

Cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

### **3.5. Técnica e Instrumentos de recolección de datos**

Se realizó por medio de la técnica de observación, en la que se registraron los datos que nos permitieron desarrollar la investigación.

### 3.5.1. Instrumento de recolección de datos

La ficha recolección de datos para las pruebas de solubilidad, marcha fitoquímica y el análisis microbiológico se realizó en base a ficha de observación Ad-hoc con sus respectivos criterios, teniendo el juicio de expertos con una mínima y máxima calificación (Ver anexo 6). Se elaboró con el propósito de recopilar los datos para la prueba en estudio y la validación se obtuvo mediante la evaluación del juicio de expertos, fueron Químicos Farmacéuticos, especialistas y con amplia experiencia en la investigación.

**Tabla 3.1. Resultado Juicio de Expertos**

| Juez experto                          | Resultados | Condición      |
|---------------------------------------|------------|----------------|
| Mg. Q.F Pineda Pérez, Newman<br>Mario | 45         | Válido aplicar |
| Mg. Q.F Jacinto Hervías, Pedro        | 47         | Válido aplicar |

La revisión dio como resultado, el instrumento sea válido, aplicable y que tenga concordancia. El proceso permitió al investigador recopilar toda la información necesaria para relacionar las dos variables de estudio.

### 3.5.2. Materiales, Reactivos y Equipos de Laboratorio

#### 3.5.2.1. Materiales de Bioseguridad

| <b>MATERIALES DE BIOSEGURIDAD</b>  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Guantes quirúrgicos</li><li>▪ Gafas</li><li>▪ Guardapolo</li><li>▪ Gorro</li><li>▪ Mascarilla</li><li>▪ Botas desechables (para cubrir el calzado)</li></ul> |

#### 3.5.2.2. Materiales de Laboratorio

| <b>MATERIALES DE LABORATORIO</b>   |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Vaso precipitado 50 ml, 200 ml</li><li>▪ Matraces 500 ml, 1000 ml</li><li>▪ Probetas 50 ml, 100 ml</li><li>▪ Pipetas volumétricas 1ml, 2ml, 5 ml, 10 ml</li><li>▪ Placas Petri</li><li>▪ Tubos de ensayo</li><li>▪ Tubos con tapa rosca</li><li>▪ Gradillas</li><li>▪ Bagueta</li><li>▪ Disco de antibiótico</li><li>▪ Embudo</li><li>▪ Frasco ámbar 1000 ml</li><li>▪ Frasco vidrio pequeños</li><li>▪ Luna reloj</li><li>▪ Papel kraft</li><li>▪ Placas sílica gel</li></ul> |

- Papel filtro
- Capilares
- Goteros
- Mortero
- Pinza de madera
- Frasco gotero
- Escobillones estériles
- Asa de siembra
- Hisopos

### 3.5.2.3. Equipos de Laboratorio e Instrumentos

- | <b>EQUIPOS DE LABORATORIO E INSTRUMENTOS</b>  |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Balanza</li> <li>▪ Baño María</li> <li>▪ Mechero</li> <li>▪ Cámara cromatográfica</li> <li>▪ Cocinilla</li> <li>▪ Vernier</li> <li>▪ Bomba al vacío</li> <li>▪ Estufa Memmert N° 36309 - 2005</li> <li>▪ Incubadora Binder N° 72772 - 2014</li> <li>▪ Autoclave</li> <li>▪ Lámpara Luz UV</li> <li>▪ Frasco ámbar 1000 ml</li> </ul> |

### 3.5.2.4. Medios de Cultivo

- | <b>MEDIOS DE CULTIVO</b>   |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Agar Mueller Hinton</li> <li>▪ Caldo Trypticase soya</li> </ul> |

### 3.5.2.5. Reactivos

| REACTIVOS   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Etanol</li><li>▪ Alcohol 96 °</li><li>▪ Cloroformo</li><li>▪ Éter de petróleo</li><li>▪ Ciclohexano</li><li>▪ Acetona</li><li>▪ Agua destilada</li><li>▪ Reactivo Shinoda</li><li>▪ Cintas de magnesio metálico (Shinoda)</li><li>▪ Ácido clorhídrico 1 %</li><li>▪ Ácido sulfúrico</li><li>▪ Alfa naftol (Rvo Molisch)</li><li>▪ Reactivo gelatina</li><li>▪ Solución Fehling A</li><li>▪ Solución Fehling B</li><li>▪ PB (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub></li><li>▪ FeCl 5 %</li><li>▪ NaOH 10 %</li><li>▪ Reactivo Dragendorff</li><li>▪ Reactivo Mayer</li><li>▪ Reactivo Wagner</li><li>▪ Ácido acético</li><li>▪ Reactivo Ninhidrina</li><li>▪ 2,4 DNFH</li><li>▪ Cloruro de Sodio</li></ul> |

### **3.6. Procesamiento de datos**

#### **3.6.1. Recolección y Autenticación botánica**

La muestra fue recolectada en el distrito de Sillapata, departamento de Huánuco. Se observó la mejor especie para recolectar (tallos, hojas, flores), utilizando una tijera para cortar y luego guardar la muestra en pequeños sacos de yute con orificios envueltos en papel Kraft para su posterior traslado a la ciudad de Lima. Una parte de la muestra recolectada se llevó a determinar la identificación taxonómica botánica, autenticada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se adjunta Constancia en el Anexo N° 3.

#### **3.6.2. Preparación Muestra vegetal**

Se emplearon 500 g de hojas, separando los residuos que podrían contaminar la muestra y se limpió cuidadosamente con alcohol de 96°. Una vez limpia se extendió en una fuente para proceder a secar a temperatura ambiente por el período de 7 días. Posteriormente se llevó a secar a la estufa a una temperatura menor de 40° C durante 72 horas, para luego triturar de forma manual, obteniendo 200 g de muestra seca.

#### **3.6.3. Obtención del extracto vegetal**

Obtenida la muestra, se pesó los 200 g de *Urtica urens* L., adicionando etanol a 96 ° y luego se dejó macerar la muestra por el período de 2 semanas, guardando en un frasco de vidrio ámbar debidamente rotulado, renovando el

solvente y en constante agitación diaria. Pasado el tiempo de maceración, se procedió a filtrar la muestra al vacío.

### **3.7. Tamizaje Fitoquímico**

Se realizó reacciones de identificación teniendo en cuenta la aplicación de pruebas de coloración y precipitación para determinar la presencia o ausencia de metabolitos activos en la planta, logrando por el adecuado uso de reactivos específicos.

#### **3.7.1. Prueba de Solubilidad**

Se utilizaron 5 tubos de ensayo con determinados solventes y luego se procedió a agregar el extracto vegetal, se agitó la mezcla y se observó los resultados obtenidos:

- 1ml de Ciclohexano, luego se adicionó 2ml del extracto.
- 1ml de Etanol, luego se adicionó 2ml del extracto.
- 1ml de Cloroformo, luego se adicionó 2ml del extracto.
- 1ml de Acetona, luego se adicionó 2ml del extracto.
- 1ml de Agua destilada, luego se adicionó 2ml del extracto.

#### **3.7.2. Marcha Fitoquímica**

Según Miranda, M. (2002) la marcha fitoquímica se realiza utilizando la determinación de Metabolitos secundarios:

##### **1. Identificación de Carbohidratos Generales**

- **Reactivo Molisch:** en un tubo de ensayo se adicionó 2 ml del extracto vegetal, luego se añadió V gotas del reactivo, luego se deja resbalar por las paredes del tubo 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se agitó lentamente. La reacción será positiva si se forma un anillo violeta oscuro.



- **Reactivo 2,4 DNFH:** se añadió 2 ml de extracto vegetal y 1 ml del reactivo, se agitó y se llevó luego a baño maría por 10 min. Se forma un precipitado rojo ladrillo cuando la prueba es positiva, reconocimiento de cetonas.

## 2. Identificación de Azúcares Reductores

- **Reactivo Fehling A y B:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se mezcló III gotas del reactivo Fehling A y Fehling B, se agitó y llevamos a calor por 5 minutos aproximadamente. Será positivo con un precipitado naranja ladrillo.
- **Reactivo Tollens:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó V gotas del reactivo y se agitó lentamente. Se llevó a baño maría. La formación de un precipitado plateado “espejo de plata” será un resultado positivo

## 3. Identificación de Flavonoides

- **Reactivo Shinoda:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó X gotas de reactivo seguido cintas de Mg metálico y luego 10 gotas de HCl al 1%.
- **Reactivo Pb (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se adicionó III gotas de reactivo.

## 4. Identificación de Compuestos Fenólicos

- **Reactivo FeCl<sub>3</sub> al 5 %:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó II gotas de reactivo y se agitó. La coloración rojo violáceo será positivo para esta prueba.

## 5. Identificación de Cumarinas

- **Reactivo NaOH 10 %:** se agregó a un tubo de ensayo 2 ml del extracto vegetal, luego se adicionó II gotas de reactivo, se evidencia una formación de precipitado amarillo intenso.

## 6. Identificación de Taninos

- **Reactivo Gelatina 1%:** (Gelatina + NaCl) en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se añadió V gotas de reactivo, luego se agregó V gotas del reactivo Gelatina salada. Si se presenta un color blanco como precipitado la prueba es positiva

## 7. Identificación de Alcaloides

- **Reactivo Dragendorff:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se añadió II gotas de reactivo, se calentó hasta sequedad y se agregó HCl al 1%. Se presenta un color rojo a naranja la prueba es positiva.
- **Reactivo Mayer:** en un tubo de ensayo se agregó 2ml de extracto vegetal, luego se agregó III gotas de reactivo, se calentó hasta sequedad y se agregó HCl al 1% y NaCl. La formación de un precipitado blanco evidencia la prueba positiva.
- **Reactivo Wagner:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó III gotas de reactivo, se calentó hasta sequedad y luego se añadió HCl 1 %. Presenta un color marrón la prueba es positiva.

## 8. Identificación de Aminoácidos

- **Ninhidrina:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto, luego se agregó II gotas de reactivo. Se llevó a calentar. La formación de un color violeta es positiva.

## 9. Identificación de Saponinas

- **Prueba de espuma:** el ensayo se considera positivo si hay presencia de espuma en la superficie de la muestra y persiste por más de 2 minutos.
- **Prueba de Liebermann-Burchard:** se adicionó en un tubo de ensayo 2 ml del extracto vegetal, luego se agregó 1 ml de agua destilada, seguido II gotas de reactivo Anhidrido acético y I gota de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### 3.7.2.1. Guía de recolección de datos: Marcha Fitoquímica

#### 1. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)

Cuadro 3.1. Prueba de Solubilidad

| M.P  | AGUA           | ETANOL                  | CICLOHEXANO          | CLOROFORMO           | ACETONA                  |
|------|----------------|-------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------|
| Hoja | No Soluble (-) | Mayor Solubilidad (+++) | Poca Solubilidad (+) | Poca Solubilidad (+) | Regular Solubilidad (++) |

|         | No soluble | Poca solubilidad | Regular solubilidad | Mayor solubilidad |
|---------|------------|------------------|---------------------|-------------------|
| LEYENDA | (-)        | (+)              | (++)                | (+++)             |

#### 2. Determinación cualitativa del Tamizaje Fitoquímicos del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra).

Cuadro 3.2. Prueba de Carbohidratos

| GRUPO FITOQUÍMICO                     | PROCEDIMIENTO                                       | REACTIVO               | REACCIÓN                       |
|---------------------------------------|---|------------------------|--------------------------------|
| Presencia de carbohidratos generales  | 2ml de E.V. + V gotas Rvo agitación lenta           | MOLISH                 | Coloración violeta             |
|                                       | 2 ml de E.V. + X gotas Rvo agitar y llevar a BM*10' | 2,4 DNFH               | Precipitación rojo ladrillo    |
| Presencia de carbohidratos reductores | 2 ml de E.V. + V gotas Rvo. Llevar baño maría       | TOLLENS (Carbohidrato) | Formación precipitado plateado |
|                                       | 2 ml de E.V. + III gotas Rvo A + B + BM*5'          | FEHLING A + B          | Precipitado rojo               |

**3. Determinación cualitativa de Metabolitos Secundarios del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)**

**Cuadro 3.3. Prueba de Flavonoides**

| GRUPO FITOQUÍMICO | REACTIVO                                       | PROCEDIMIENTO  | REACCIÓN                                   |
|-------------------|--|--|--|
| Flavonoides       | SHINODA  | 2ml de E.V. + X gotas Rvo Mg metálico + X gotas HCl [] | Coloración naranja, rosado, rojo o violeta |
|                   | Pb<br>(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub><br>1% | 2 ml de E.V. + III gotas Rvo                           | Coloración amarillo tenue                  |

**4. Determinación cualitativa de Compuestos Fenólicos del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)**

**Cuadro 3.4. Prueba para Compuestos Fenólicos**

| GRUPO FITOQUÍMICO    | REACTIVO             | PROCEDIMIENTO                          | REACCIÓN                               |
|----------------------|----------------------|--|--|
| Compuestos fenólicos | FeCl <sub>3</sub> 5% | 2ml de E.V. + II gotas Rvo + agitación | Coloración rojo, violeta, verde o azul |

**5. Determinación cualitativa de Cumarinas del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)**

**Cuadro 3.5. Prueba para Cumarinas**

| GRUPO FITOQUÍMICO | REACTIVO | PROCEDIMIENTO              | REACCIÓN                    |
|-------------------|----------|----------------------------|-----------------------------|
| Cumarinas         | NaOH 10% | 2ml de E.V. + II gotas Rvo | Coloración amarillo intenso |

**6. Determinación cualitativa de Taninos del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)**

**Cuadro 3.6. Prueba para Taninos**

| GRUPO FITOQUÍMICO | REACTIVO       | PROCEDIMIENTO                                    | REACCIÓN           |
|-------------------|----------------|--|--------------------|
| Taninos           | Gelatina +NaCl | 2ml de E.V. + V gotas Rvo + V gotas Rvo gelatina | Precipitado blanco |

**7. Determinación cualitativa de Alcaloides del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)**

**Cuadro 3.7. Prueba de Alcaloides**

| GRUPO FITOQUÍMICO | REACTIVO    | PROCEDIMIENTO  | REACCIÓN              |
|-------------------|-------------|--|-----------------------|
| Alcaloides        | Dragendorff | 2ml de E.V. + II gotas Rvo calentar a sequedad y adicionar 1 ml HCl          | Coloración anaranjado |
|                   | Mayer       | 2ml de E.V. + III gotas Rvo calentar a sequedad y adicionar 1 ml HCl y NaCl. | Precipitado blanco    |
|                   | Wagner      | 2ml de E.V. + III gotas Rvo calentar a sequedad y adicionar HCl              | Precipitado marrón    |

**8. Determinación cualitativa de Aminoácidos del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)**

**Cuadro 3.8. Prueba de Aminoácidos**

| GRUPO FITOQUÍMICO | REACTIVO   | PROCEDIMIENTO   | REACCIÓN           |
|-------------------|------------|---|--------------------|
| Aminoácidos       | Ninhidrina | 2 ml de E.V. + II gotas de Rvo. Luego llevar a baño maría | Coloración violeta |

## 9. Determinación cualitativa de Saponinas del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)

Cuadro 3.9. Prueba de Saponinas

| GRUPO FITOQUÍMICO           | REACTIVO             | PROCEDIMIENTO  | REACCIÓN   |
|-----------------------------|----------------------|--|--|
| Saponinas                   | Ensayo de la espuma  | Reacción de burbujeo de la muestra.  | Cambio de coloración, formación burbujeante                |
| Esteroides / Triterpenoides | Lieberman - Burchard | 2 ml de muestra + 1 ml de agua destilada, calentarse a sequedad y agregar Anhidrido acético + II gotas de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ] | Coloración azul a verde, rojo a rosado, magenta a violeta. |

### 3.7.3. Cromatografía en capa fina

Es una técnica empleada para la separación de mezclas de los productos vegetales. La detección de los compuestos generalmente se realiza por métodos generales o específicos, la luz UV puede detectar sustancias que absorben una longitud de onda larga 365nm y de onda corta a 254 nm.

Se sembró la muestra en la lámina de cromatografía usando un tubocapilar. Luego preparamos la fase móvil en la campana extractora colocándolo en la cámara cromatográfica y la cubrimos para que se sature. Se colocó la lámina cromatográfica en el interior de la cámara y esperamos hasta que la fase móvil suba por capilaridad a través de la lámina, hasta un centímetro por debajo

del borde superior para proceder a retirarla y esperar que seque. Finalmente se visualizó la lámina en la lámpara de luz ultravioleta para visualizar.

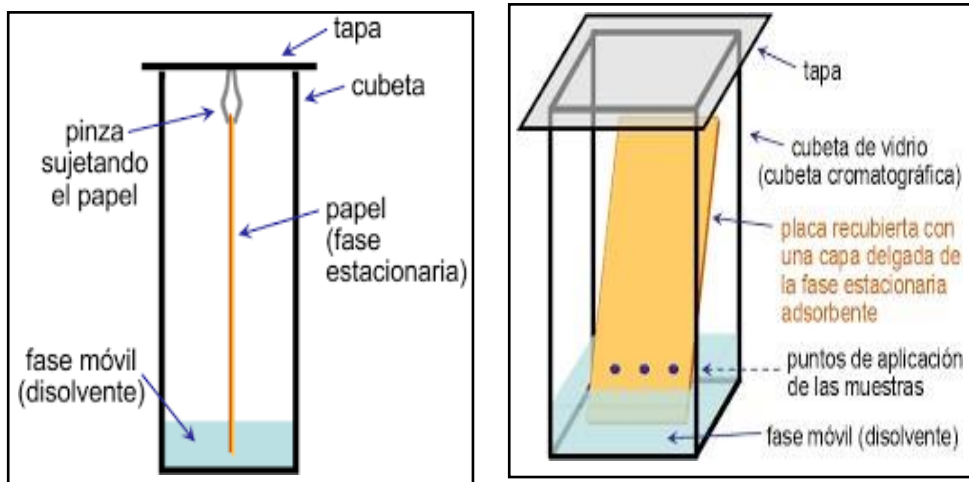


Figura 3.1. Cromatografía

Fuente: CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA FUNDAMENTO TEORICO

### 3.8. Ensayo Microbiológico

Se empleó el método de Kirby Bauer, que consiste en la difusión de la muestra sobre una delgada capa de agar solidificado y se extiende para que el crecimiento de microorganismos sea inhibido en las zonas alrededor del área que contiene los discos de papel impregnados con el antibiótico y la muestra humedecida con el extracto etanólico de *Urtica urens* L. Ver anexo N° 5

Se trabajó con la cepa estándar *Escherichia coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection), utilizamos como control negativo agua destilada estéril y como control positivo siguiendo los parámetros del INS, se utilizaron discos de sensibilidad LyD Insumed. SAC del antibiótico Ciprofloxacino (5 µg). Se utilizó medios de cultivo como el Agar Mueller-Hinton, este se adicionó en las placas para el ensayo de sensibilidad antimicrobiana.



### **3.8.1. Preparación del Agar Mueller- Hinton**

Utilizamos el medio de cultivo Muller-Hinton, el que se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante, en el que se pesó 10.88 g de agar disuelto en 320 ml de agua destilada, su pH oscila de 7.2 a 7.4 en solución de NaOH a 0.1N.

Luego se autoclavó el agar a temperatura de 121° C durante 15 minutos, se llevó a baño maría para enfriar a 48 - 50 °C. Después se vertió de manera uniforme el medio en las placas Petri hasta un fondo aproximado de 4mm, corresponde a 20 ml para placas de 15 x 100 ml de diámetro. Posteriormente se dejó solidificar el medio de cultivo por el lapso de 30 minutos.

### **3.8.2. Preparación del estándar (0,5 Mc. Farland) para el inóculo bacteriano**

Para la elaboración del estándar se adicionó 0.5 ml de BaCl<sub>2</sub> a 9,9 ml de solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, mezclando y en constante movimiento para mantener la suspensión. Luego se distribuyó en 10 tubos de tapa rosca 4 a 6 ml, los que se utilizaron para preparar el inóculo, almacenado en un ambiente fuera de luz a temperatura ambiente.

### **3.8.3. Diluciones del extracto**

Se añadió 100 ml de extracto etanólico considerando esta la concentración al 100 %, a partir de ella se realizó las diluciones con agua destilada estéril para obtener las concentraciones al 75 % ,50 % y 25 % respectivamente. Los extractos se almacenaron en frascos de color ámbar.

- Concentración al 25% ➡ 25ml de extracto etanólico y 75 ml de agua destilada.
- Concentración al 50% ➡ 50 ml de extracto etanólico y 50 ml de agua destilada.
- Concentración al 75% ➡ 75 ml de extracto etanólico y 25 ml de agua destilada.
- Concentración al 100% ➡ 100 ml de extracto etanólico.

#### **3.8.4. Uso de los discos de antibiótico con el extracto**

Los discos de antibiótico se utilizaron con papel Wathman N°4, con la ayuda de un perforador convencional. Estos discos se esterilizaron en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Luego se agregó a cada disco 20 µl de las concentraciones al 25 %, 50 %, 75 % y 100 % del extracto etanólico dejando secar a temperatura ambiente.

#### **3.8.5. Preparación del inóculo**

Al transferir la bacteria se llevó a un tubo de 4 a 5 mL de caldo Tripticasa soya. Luego se incubó el caldo a temperatura entre 35 ° a 37 ° C, hasta que alcance o exceda la turbidez del estándar 0,5 según la escala Mc. Farland (de 2 a 6 horas aproximadamente). La suspensión preparada contiene aproximadamente  $1.5 \times 10^9$  U.F.C./ml para *Escherichia coli* ATCC 25922.

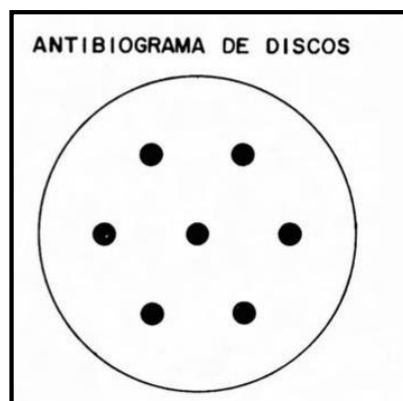
#### **3.8.6. Inoculación en placas**

Pasado los 15 minutos siguientes de haber ajustado la turbidez del inóculo de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922, se sumergió un hisopo estéril dentro de la suspensión, rotando varias veces contra la pared del tubo por encima del

nivel del líquido con la finalidad de remover el exceso de inóculo. Luego se inoculó las placas de Mueller Hinton, estriando con el hisopo en tres diferentes direcciones para obtener una distribución uniforme del inóculo, sin dejar ninguna zona libre.

### 3.8.7. Aplicación de los discos

Se colocaron los discos con la ayuda de pinzas estériles presionando suavemente sobre la superficie para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.



**Figura 3.2. Patrón de distribución de los discos en el medio de cultivo**

**Fuente: Bernal, M.**

Los discos cargados con las distintas concentraciones del extracto, control positivo y control negativo sobre las placas inoculadas. Se recomienda que el disco no debe removerse cuando se encuentre en contacto con la superficie del agar, ya que muchos antibióticos se dispersan rápidamente.

### 3.8.8. Medición de los halos de inhibición

Se procedió a medir la zona de inhibición de cada disco sobre una superficie oscura bajo luz reflejada. Se midió el diámetro de la zona incluyendo

los mm del disco, con un vernier sobre el respaldo de la placa Petri sin remover la placa. Los diámetros de inhibición se interpretan según la categoría de sensibilidad de la cepa bacteriana: sensible (s), intermedio (I) o resistente (R).

**Cuadro 3.10. Fórmula del Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)**

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Diámetro de la muestra} \times 100}{\text{Diámetro del control}}$$

Los ensayos se desarrollaron por triplicado y se realizó cultivos de control de todas las cepas para comprobar su viabilidad. El criterio utilizado para la clasificación de la actividad antimicrobiana de los extractos evaluados se detalla en el siguiente cuadro.

**Cuadro 3.11. Clasificación Actividad Antibacteriana según porcentaje de inhibición**

| <b>ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA</b> | <b>PORCENTAJE DE INHIBICIÓN</b> |
|---------------------------------|---------------------------------|
| Inactivo                        | < 19 %                          |
| Poco activo                     | 20 - 30 %                       |
| Moderadamente activo            | 31 - 50 %                       |
| Buena actividad                 | > 61 %                          |

Fuente: Carvallo Xavier, 2002

### 3.8.9. Procesamiento de Datos

Se formuló la media y la desviación estándar de los diámetros de inhibición, como medidas de tendencia central, obtenidas del extracto etanólico de *Urtica*

*urens* L. (Ortiga negra), que se detallaron en tablas y gráficos. Los resultados se obtuvieron por el método de Análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) v. 23, por Windows 10, con la finalidad que la información sea consistente en la ejecución del instrumento de investigación.

Se utilizó este método con el propósito de comparar distintas medias en múltiples situaciones; ligado al diseño experimental.

Las diferencias entre medidas de grupo fueron analizadas por el test de comparaciones múltiples. El valor  $p < 0.05$  fue considerado como significativo. Los resultados muestrales fueron obtenidos mediante estimación por intervalo a un 95% de certeza.

### **3.9. Prueba estadística**

#### **3.9.1. Análisis de Varianza**

Es el procedimiento estadístico que nos permite medir la variación total de las observaciones, dividiendo sus componentes y quedando el residuo como error experimental.

Este análisis nos indica la relación entre una variable dependiente (la actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, estudios in vitro) y los factores independientes (Extracto etanólico de *Urtica urens* L.).

El análisis de varianza es un método donde se puede comparar dos o más medias de las observaciones, además nos permite medir la variación de las respuestas numéricas como valores de evaluación de diferentes variables.

Se calculó el porcentaje de inhibición del extracto etanólico *Urtica urens* L. (Ortiga negra), en la prueba de actividad antibacteriana por el método de Difusión en agar (Kirby Bauer), los valores son presentados en tablas y gráficos, y clasificados de acuerdo a las especificaciones.

## CAPITULO IV – PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1. Presentación de resultados

#### 4.1.1. Prueba de Solubilidad

Tabla 4.1. Resultados de la prueba de solubilidad del extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)

| PRUEBA DE SOLUBILIDAD |                |                          |
|-----------------------|----------------|--------------------------|
| Solvente              |                | Resultado de la "Ortiga" |
| Tubo N° 1             | Acetona        | (++)                     |
| Tubo N° 2             | Agua destilada | (-)                      |
| Tubo N° 3             | Cloroformo     | (+)                      |
| Tubo N° 4             | Ciclohexano    | (+)                      |
| Tubo N° 5             | Etanol         | (+++)                    |

|         | No soluble | Poca solubilidad | Regular solubilidad | Mayor solubilidad |
|---------|------------|------------------|---------------------|-------------------|
| LEYENDA | (-)        | (+)              | (++)                | (+++)             |

Se observa en la tabla 4.1 la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) muy soluble en Etanol, regularmente soluble en Acetona, poco soluble en Cloroformo y ciclohexano y no soluble en agua.

#### 4.1.2. Marcha Fitoquímica

Tabla 4.2. Resultados del Tamizaje fitoquímico de los metabolitos secundarios del Extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)

| GRUPO FITOQUÍMICO    | REACTIVO                                 | REACCIÓN                                  | RESULTADOS |
|----------------------|--|---|------------|
| Flavonoides          | SHINODA                                  | Coloración violeta, formación de burbujas | (+++)      |
|                      | Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> 1% | Coloración anillo tenue                   | (++)       |
| Compuestos Fenólicos | FeCl <sub>3</sub>                        | Coloración violeta                        | (++)       |
| Cumarinas            | NaOH 10%                                 | Coloración amarillo intenso               | (++)       |
| Taninos              | Gelatina salada + NaCl                   | Precipitado blanco                        | (++)       |
| Alcaloides           | Dragendorff                              | Coloración rojo oscuro                    | (-)        |
|                      | Mayer                                    | Coloración rojo intenso                   | (-)        |
|                      | Wagner                                   | Precipitado marrón                        | (-)        |
| Aminoácidos          | Ninhidrina                               | Coloración violeta                        | (+)        |
| Saponinas            | Reacción con agua                        | Formación de burbujas                     | (+)        |
| Esteroides           | Lieberman-Burchard                       | Coloración azul-verdoso                   | (+)        |

|         | Ausencia | Escaso | Regular | Abundante |
|---------|----------|--------|---------|-----------|
| LEYENDA | (-)      | (+)    | (++)    | (+++)     |



Se observa en la tabla 4.2 los resultados del Tamizaje Fitoquímico del extracto etanólico de *Urtica urens* L. evidenciando los metabolitos secundarios en su composición.

La presencia de los flavonoides se encuentra en cantidad abundante gracias a los resultados obtenidos por las pruebas con los reactivos Shinoda el cual dio una coloración rojiza y el acetato de plomo que dio una coloración amarilla. La presencia de alcaloides fue ausente. Los taninos se encuentran en una cantidad regular con la reacción de gelatina salada (1% de gelatina) logrando identificar el precipitado blanco. Al analizar la presencia de saponinas no se observó ya que no formó espuma cuando se añadió agua y se agitó la mezcla.

Gracias a la investigación fitoquímica del extracto etanólico de *Urtica urens* L. se logró determinar la presencia de Flavonoides, Compuestos fenólicos, Taninos, Cumarinas y Aminoácidos.

#### 4.1.3. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro

Tabla 4.3. Lectura de formación de los halos de inhibición según porcentaje de efectividad de las concentraciones del extracto Etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga)

| CONCENTRACIÓN DEL<br>EXTRACTO | PROMEDIO (mm)     |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   | Σ     | PROMEDIO<br>(mm) |
|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|------------------|
|                               | 24 HORAS          |                   |                   | 48 HORAS          |                   |                   | 72 HORAS          |                   |                   |       |                  |
|                               | Lectura 1<br>(mm) | Lectura 2<br>(mm) | Lectura 3<br>(mm) | Lectura<br>1 (mm) | Lectura<br>2 (mm) | Lectura<br>3 (mm) | Lectura 1<br>(mm) | Lectura 2<br>(mm) | Lectura<br>3 (mm) |       |                  |
| 25%                           | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0     | 0                |
| 50%                           | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0     | 0                |
| 75%                           | 9.8               | 9.9               | 10.1              | 11.7              | 11.8              | 11.9              | 12.5              | 12.8              | 12.9              | 103.4 | 11.49            |
| 100%                          | 12.9              | 13.3              | 13.5              | 17                | 17.4              | 17.7              | 18.7              | 18.8              | 18.9              | 148.2 | 16.47            |
| Ciprofloxacino                | 12.3              | 14                | 14.3              | 18.6              | 21                | 23.5              | 30.1              | 30.6              | 31.5              | 195.9 | 21.77            |
| Agua destilada                | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 | 0     | 0                |

| CONCENTRACIÓN DEL<br>EXTRACTO | PROMEDIO         |                  |             | PROMEDIO TOTAL |
|-------------------------------|------------------|------------------|-------------|----------------|
|                               | 24 HORAS<br>(mm) | 48 HORAS<br>(mm) | 72<br>HORAS |                |
| 25%                           | 0                | 0                | 0           | 0              |
| 50%                           | 0                | 0                | 0           | 0              |
| 75%                           | 9.93             | 11.8             | 12.73       | 11.49          |
| 100%                          | 13.23            | 17.37            | 18.80       | 16.47          |
| Ciprofloxacino                | 13.53            | 21.03            | 30.73       | 21.77          |
| Agua destilada                | 0.00             | 0.00             | 0.00        | 0              |

Los resultados obtenidos en la tabla 4.4, muestran la lectura de formación de los halos de inhibición:

- El extracto a la concentración del 25 % y 50 % no presenta formación de los halos por lo que no presenta actividad antibacteriana.
- La concentración del extracto al 75 % presentó formación del halo de inhibición en las muestras realizadas por triplicado, siendo el mejor

resultado obtenido a las 72 horas de incubación dando como suma promedio 103.4 y el promedio 11.49.

- Se evidencia además que la concentración del extracto al 100 % presentó formación de halo en las muestras por triplicado, los resultados fueron más significativos cuyo suma promedio fue de 148.2 y el promedio 16.47 en contraste a la concentración de 75 %.
- Las muestras del control positivo Ciprofloxacino se realizaron por triplicado evidenciado mejor resultado en la formación de los halos de inhibición con un rango promedio de 21.77 en comparación al extracto etanólico de *Urtica urens* L.

#### a. Porcentaje de efecto inhibitorio relativo

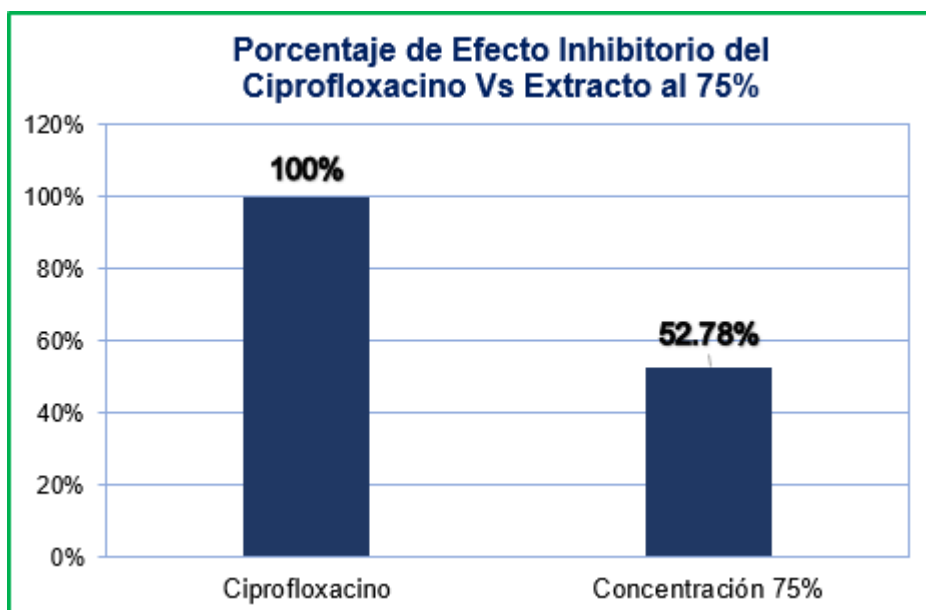
Se calculó tomando como patrón de referencia las medidas del diámetro de la zona de inhibición del control positivo y de los extractos ensayados.

$$\text{PEIR} = \frac{X \text{ } \emptyset \text{ Halo de inhibición del extracto}}{X \text{ } \emptyset \text{ Halo de inhibición del control}} \times 100$$

El halo de inhibición de la bacteria *Escherichia coli* promedio con el extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) al 75 por ciento es 11.49 mm comparado con el Ciprofloxacino como fármaco de referencia fue de 21.77 mm.

$$\text{PEIR} = \frac{11.49}{21.77} \times 100 = 52.78$$

Gráfico 4.1. PEIR del Ciprofloxacino con la concentración al 75%



El halo de inhibición de la bacteria *Escherichia coli* promedio con el extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) al 100 por ciento es 16.47 mm comparado con el Ciprofloxacino como fármaco de referencia fue de 21.77 mm.

$$\text{PEIR} = \frac{16.47}{21.77} \times 100 = 75.65$$

Gráfico 4.2. PEIR del Ciprofloxacino con la concentración al 100%

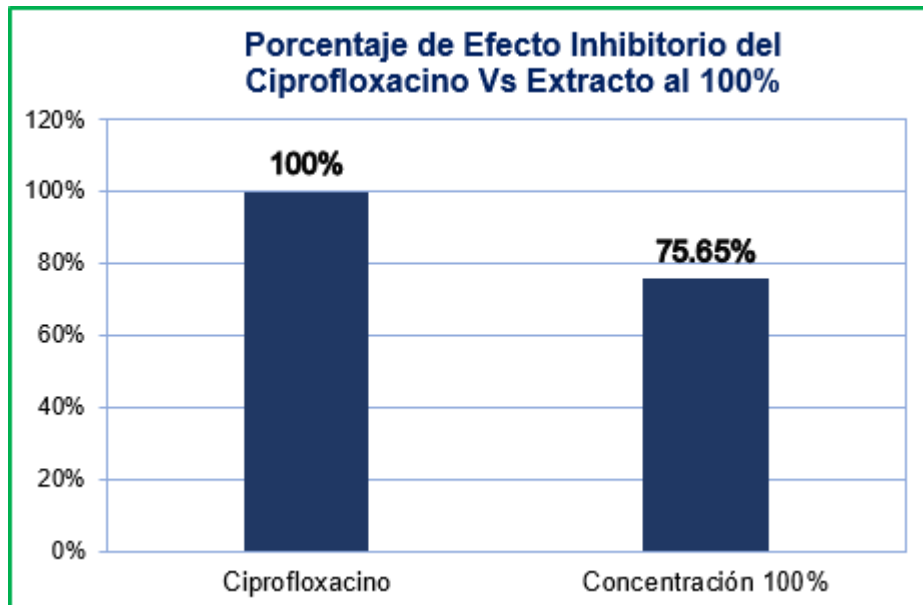


Tabla 4.4. Porcentaje de inhibición del extracto Etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) a las concentraciones del 75 % y 100 % comparado con el fármaco.

| CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO | PROMEDIO (mm) | % INHIBITORIO |
|----------------------------|---------------|---------------|
| 75%                        | 11.49         | 52.78%        |
| 100%                       | 16.47         | 75.65%        |
| CIPROFLOXACINO             | 21.77         | 100%          |

| CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO vs CIPROFLOXACINO | % INHIBICIÓN | ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA    |
|--|--------------|-----------------------------|
| Concentración al 75 % vs Ciprofloxacino      | 52.78%       | PRESENTA MODERADA ACTIVIDAD |
| Concentración al 100 % vs Ciprofloxacino     | 75.65%       | PRESENTA BUENA ACTIVIDAD    |

Aplicando la fórmula para hallar el porcentaje de inhibición:

- La concentración del extracto al 75 por ciento muestra un 52.78 % de efecto inhibitorio tomando como referencia al Ciprofloxacino que tiene el 100 por ciento de efectividad inhibitoria.
- La concentración del extracto al 100 por ciento evidencia un 75.65 % de efecto inhibitorio tomando al Ciprofloxacino de referencia que presentó el 100 por ciento de efectividad inhibitoria.

Tabla 4.5. Porcentaje de variabilidad con respecto a los Controles

| CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO | N° DE PLACAS | TIEMPO |      |      | % INHIBICIÓN TOTAL |
|----------------------------|--------------|--------|------|------|--------------------|
|                            |              | 24 h   | 48 h | 72 h |                    |
| 25%                        | 1            | 0      | 0    | 0    | 0%                 |
|                            | 2            | 0      | 0    | 0    |                    |
|                            | 3            | 0      | 0    | 0    |                    |
| 50%                        | 1            | 0      | 0    | 0    | 0%                 |
|                            | 2            | 0      | 0    | 0    |                    |
|                            | 3            | 0      | 0    | 0    |                    |
| 75%                        | 1            | 9.8    | 9.9  | 10.1 | 52.78%             |
|                            | 2            | 11.7   | 11.8 | 11.9 |                    |
|                            | 3            | 12.5   | 12.8 | 12.9 |                    |
| 100%                       | 1            | 12.9   | 13.3 | 13.5 | 75.65%             |
|                            | 2            | 17     | 17.4 | 17.7 |                    |
|                            | 3            | 18.7   | 18.8 | 18.9 |                    |

**b. Análisis estadístico de los resultados del ensayo in vitro.**

**Tabla 4.6. Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad entre la medida de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) sobre *Escherichia coli***

|                | N | Media   | Mediana | Desviación estándar | Rango | Mínimo | Máximo |
|----------------|---|---------|---------|---------------------|-------|--------|--------|
| 25%            | 9 | ,0000   | ,0000   | ,0000               | ,00   | ,00    | ,00    |
| 50%            | 9 | ,0000   | ,0000   | ,0000               | ,00   | ,00    | ,00    |
| 75%            | 9 | 11,4889 | 11,8000 | 1,24242             | 3,10  | 9,80   | 12,90  |
| 100%           | 9 | 16,4667 | 17,4000 | 2,51446             | 6,00  | 12,90  | 18,90  |
| Ciprofloxacino | 9 | 21,7667 | 21,0000 | 7,59539             | 19,20 | 12,30  | 31,50  |
| Agua destilada | 9 | ,0000   | ,0000   | ,0000               | ,00   | ,00    | ,00    |

La tabla 4.6. muestra el Análisis de varianza de la actividad sobre *Escherichia coli* con las pruebas de comparaciones múltiples e intervalos de confianza al 95% según:

Se muestra la media de las concentraciones de 75% fueron de 11,48, al 100% fueron de 16,47; mientras para el control positivo ciprofloxacino fue de 21,76; por lo que se observa que el extracto etanólico a la concentración del 100% presenta actividad antibacteriana similar a la del Ciprofloxacino.

Tabla 4.7. Contrastes múltiples (ANOVA) de la actividad entre la medida de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) sobre *Escherichia coli*

| COMPARACIONES EN PAREJAS DE TUKEY  |                  |                          |                    |           |           |         |
|--|------------------|--------------------------|--------------------|-----------|-----------|---------|
| Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95% |                  |                          |                    |           |           |         |
| Factor   | N                | Media                    | Agrupación         |           |           |         |
| Ciprofloxacino   | 9                | 21,77                    | A                  |           |           |         |
| 100,00%  | 9                | 16,467                   |                    | B         |           |         |
| 75,00%   | 9                | 11,489                   |                    |           | C         |         |
| Agua destilada   | 9                | 0,000000                 |                    |           |           | D       |
| 50,00%   | 9                | 0,000001                 |                    |           |           | D       |
| 25,00%   | 9                | 0,000002                 |                    |           |           | D       |
| Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. |                  |                          |                    |           |           |         |
| <i>Pruebas simultaneas de Tukey para diferencias de las medias</i>       |                  |                          |                    |           |           |         |
| Diferencia de Niveles  |                  | Diferencia de las medias | EE. de diferencias | IC de 95% |           | Valor p |
| 50,00%   | - 25,00%         | 0,00                     | 1,56               | (-4,63    | ; 4,63)   | 1,000   |
| 75,00%   | - 25,00%         | 11,49                    | 1,56               | ( 6,86    | ; 16,12)  | 0,000   |
| 100,00%  | - 25,00%         | 16,47                    | 1,56               | ( 11,84   | ; 21,09)  | 0,000   |
| Ciprofloxacino   | - 25,00%         | 21,77                    | 1,56               | ( 17,14   | ; 26,39)  | 0,000   |
| Agua destilada   | - 25,00%         | 0,00                     | 1,56               | (-4,63    | ; 4,63)   | 1,000   |
| 75,00%   | - 50,00%         | 11,49                    | 1,56               | ( 6,86    | ; 16,12)  | 0,000   |
| 100,00%  | - 50,00%         | 16,47                    | 1,56               | ( 11,84   | ; 21,09)  | 0,000   |
| Ciprofloxacino   | - 50,00%         | 21,77                    | 1,56               | ( 17,14   | ; 26,39)  | 0,000   |
| Agua destilada   | - 50,00%         | 0,00                     | 1,56               | (-4,63    | ; 4,63)   | 1,000   |
| 100,00%  | - 75,00%         | -4,98                    | 2,20               | (-10,48   | ; 0,52)   | 0,082   |
| Ciprofloxacino   | - 75,00%         | 10,28                    | 2,20               | ( 4,78    | ; 15,78)  | 0,000   |
| Agua destilada   | - 75,00%         | -11,49                   | 1,56               | (-16,12   | ; -6,86)  | 0,000   |
| Ciprofloxacino   | - 100,00%        | 5,30                     | 2,20               | ( 0,20    | ; 10,80)  | 0,041   |
| Agua destilada   | - 100,00%        | -16,47                   | 1,56               | (-21,09   | ; -11,84) | 0,000   |
| Agua destilada   | - Ciprofloxacino | -21,77                   | 1,56               | (-26,39   | ; -17,14) | 0,000   |



## 4.2. Contrastación de Hipótesis

Para elaborar la contrastación de hipótesis, se aplicó la prueba estadística del programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences).

El análisis de varianza (ANOVA), es un modelo que permite comparar varios grupos en una variable cuantitativa. Se aplica para contrastar la igualdad de medida de tres o más poblaciones independientes (homogeneidad) y la distribución normal (normalidad). El propósito de la prueba es determinar si existe o no diferencias significativas de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra), sobre *Escherichia coli* en sus diferentes concentraciones.

Además, se aplicó la prueba de Comparaciones Múltiples (Tukey) para determinar qué medias difieren entre las diferentes concentraciones del extracto comparado con su control positivo.

### 4.2.1. Contrastación Hipótesis General

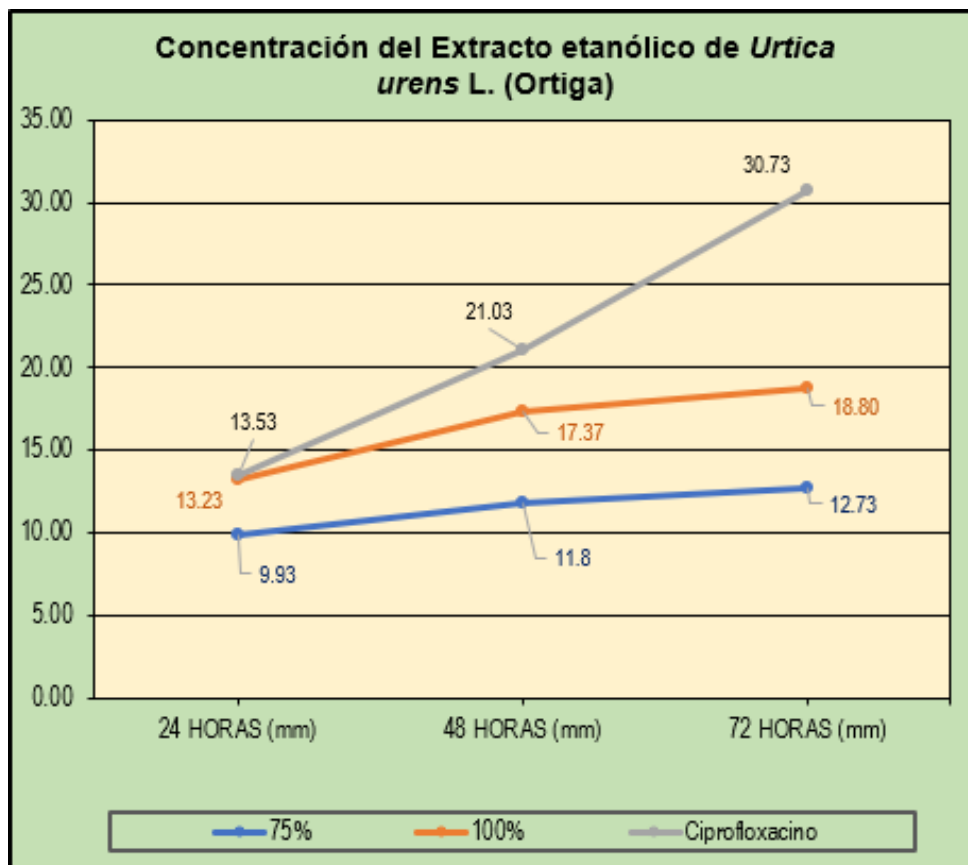
**H<sub>g</sub>:** El extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra), si presenta actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, in vitro.

**H<sub>0</sub>:** El extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra), no presenta actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, in vitro.

La verificación de la hipótesis general está en función de la contrastación de cada hipótesis específica realizada. Al encontrarse la significancia de los resultados obtenidos del ANOVA y la prueba de Post hoc (Tukey), sobre *Escherichia coli*, se demuestra que el extracto etanólico presenta actividad

antibacteriana, con un significativo incremento en la medición de sus halos de inhibición. Por tanto, rechazamos la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternativa general

**Gráfico 4.3. Promedio de los halos de inhibición de las concentraciones del extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga) sobre *Escherichia coli***



#### 4.2.2. Contrastación Hipótesis específicas

##### 4.2.2.1. Hipótesis específica 1

**H1:** Si existen metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra).

**H0:** No existen metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra).

**Tabla 4.2. Resultados del Tamizaje fitoquímico de los metabolitos secundarios del Extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)**

| GRUPO FITOQUÍMICO    | REACTIVO                                 | REACCIÓN                                  | RESULTADOS |
|----------------------|--|---|------------|
| Flavonoides          | SHINODA                                  | Coloración violeta, formación de burbujas | (+++)      |
|                      | Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> 1% | Coloración anillo tenue                   | (++)       |
| Compuestos Fenólicos | FeCl <sub>3</sub>                        | Coloración violeta                        | (++)       |
| Cumarinas            | NaOH 10%                                 | Coloración amarillo intenso               | (++)       |
| Taninos              | Gelatina salada + NaCl                   | Precipitado blanco                        | (++)       |
| Alcaloides           | Dragendorff                              | Coloración rojo oscuro                    | (-)        |
|                      | Mayer                                    | Coloración rojo intenso                   | (-)        |
|                      | Wagner                                   | Precipitado marrón                        | (-)        |
| Aminoácidos          | Ninhidrina                               | Coloración violeta                        | (+)        |
| Saponinas            | Reacción con agua                        | Formación de burbujas                     | (+)        |
| Esteroides           | Lieberman-Burchard                       | Coloración azul-verdoso                   | (+)        |

|         | Ausencia | Escaso | Regular | Abundante |
|---------|----------|--------|---------|-----------|
| LEYENDA | (-)      | (+)    | (++)    | (+++)     |

Se puede observar de la tabla 4.2 la variedad de metabolitos secundarios que se encontraron al hacer la marcha fitoquímica del extracto, resaltando como abundante los flavonoides; regular los compuestos fenólicos, taninos, cumarinas, aminoácidos; ausente los alcaloides y escasa presencia de saponinas y triterpenos.

#### 4.2.2.2. Hipótesis específica 2

**H2:** Si existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) que presente actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, in vitro.

**H0:** No existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) que presente actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, in vitro.

Antes de aplicar la prueba de ANOVA se realiza la prueba de normalidad para determinar si los datos obtenidos en el proceso, tiene una distribución normal por ello realizamos la prueba de Shapiro-Wilk porque nuestros datos son menos de 50.

En esta prueba de normalidad se toma:

H0: la variable en la población tiene distribución normal y

H1: la variable en la población es distinta a la distribución normal.

En esta prueba muestra el nivel de significancia = 5% = 0.05, si el valor obtenido en la prueba muestra el nivel de significancia  $p < 0,05$  rechazaremos la hipótesis nula.

**Tabla 4.8. Prueba de Normalidad**

|                    | CONCENTRACIÓN  | Shapiro- Wilk |    |      |
|--------------------|----------------|---------------|----|------|
|                    |                | Estadístico   | gl | Sig. |
| FORMACIÓN DE HALOS | 75%            | ,861          | 9  | ,097 |
|                    | 100%           | ,813          | 9  | ,029 |
|                    | Ciprofloxacino | ,891          | 9  | ,206 |

En la tabla 4.9 se observa que el nivel de significancia es mayor a 0.05, en todos los resultados por lo tanto aceptaremos la hipótesis nula que nos dice que la variable en la población tiene distribución normal.

Otra de las pruebas realizadas es la prueba de homogeneidad de varianzas: la prueba de LEVENE, esta prueba se utilizó ya que los datos tienen distribuciones normales, esta se lleva a cabo para comprobar que un grupo de muestras poseen varianzas iguales a un nivel de confianza determinado

H0: la variabilidad de los grupos es iguales. H1:

la variabilidad de los grupos no es iguales.

**Tabla 4.9. Prueba de Homogeneidad de varianzas**

| Prueba estadística |      |      |       |
|--------------------|------|------|-------|
| Método Levene      | df 1 | df 2 | Sig.  |
| 15,691             | 2    | 24   | ,0683 |

Como se puede observar el nivel de significancia es mayor a 0.05 por tanto se acepta la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, la que nos indica que la variabilidad de los grupos es igual.

**Tabla 4.10. Análisis de Varianza (ANOVA)**

|                | N | Media   | Mediana | Desviación estándar | Rango | Mínimo | Máximo |
|----------------|---|---------|---------|---------------------|-------|--------|--------|
| 25%            | 9 | ,0000   | ,0000   | ,0000               | ,00   | ,00    | ,00    |
| 50%            | 9 | ,0000   | ,0000   | ,0000               | ,00   | ,00    | ,00    |
| 75%            | 9 | 11,4889 | 11,8000 | 1,24242             | 3,10  | 9,80   | 12,90  |
| 100%           | 9 | 16,4667 | 17,4000 | 2,51446             | 6,00  | 12,90  | 18,90  |
| Ciprofloxacino | 9 | 21,7667 | 21,0000 | 7,59539             | 19,20 | 12,30  | 31,50  |
| Agua destilada | 9 | ,0000   | ,0000   | ,0000               | ,00   | ,00    | ,00    |

|                  | Suma de Cuadrados | gl | Media cuadrática | F      | Sig. |
|------------------|-------------------|----|------------------|--------|------|
| Entre grupos     | 475,503           | 2  | 237,751          | 10,880 | ,000 |
| Dentro de grupos | 524,449           | 24 | 21,852           |        |      |
| Total            | 999,952           | 26 |                  |        |      |

En la tabla 4.10 la significancia es menor al 0.05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna que indica que: Si existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens L.* (Ortiga negra) que presente actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, in vitro; demostrando que las concentraciones al 75 % y al 100 % presentan actividad antibacteriana.

### 4.2.2.3. Hipótesis específica 3

**H3:** Si existe similar actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) comparado con Ciprofloxacino, sobre *Escherichia coli*, in vitro.

**H0:** No existe similar actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) comparado con Ciprofloxacino, sobre *Escherichia coli*, in vitro.

Para contrastar esta hipótesis se utilizó el programa de Tukey que sirve para crear intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas entre los niveles de las medias de los factores mientras controla la tasa de error por familia en un nivel especificado.

**Tabla 4.11. Prueba de Tukey para la diferencia de las medias**

| <i>Pruebas simultaneas de Tukey para diferencias de las medias</i> |           |                          |                   |                  |         |         |  |
|--|-----------|--------------------------|-------------------|------------------|---------|---------|--|
| Diferencia de Niveles  |           | Diferencia de las medias | EE. de diferencia | IC de 95%        | Valor T | Valor p |  |
| 100,00%  | - 75,00%  | -4,98                    | 2,20              | ( -10,48 ; 0,52) | -2,26   | 0,082   |  |
| Ciprofloxacino   | - 75,00%  | 10,28                    | 2,20              | ( 4,78 ; 15,78)  | 2,41    | ,0.000  |  |
| Ciprofloxacino   | - 100,00% | 5.30                     | 2,20              | ( 0,20 ; 10,80)  | 4,66    | 0,041   |  |

Nivel de confianza individual: 98,02 %

La tabla 4.11, nos hace referencia que las concentraciones del extracto al 100% y 75% que presentaron actividad antibacteriana, se comportan de diferente manera cuando estas son comparadas con el ciprofloxacino que es el control positivo. El grado de significancia que presenta la concentración del extracto al 100% es menor al 0.05 por lo que se acepta la hipótesis alternativa

que indica que el extracto presenta similar actividad antibacteriana comparada con el ciprofloxacino, con respecto a la concentración de 75% el grado de significancia es mayor a 0.05; por ello aceptamos la hipótesis nula que indica que no hay similar actividad antibacteriana por parte del extracto comparado con el ciprofloxacino.

### 4.3. Discusión de Resultados

El presente estudio determina que el extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga) a las concentraciones de 75 % y 100 % posee actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, in vitro.

En referencia a la primera hipótesis del tamizaje fitoquímico, la investigación realizada por **Guamán F. (2015)** en el ensayo fitoquímico muestra la presencia de Flavonoides, compuestos fenólicos, azúcares reductores, cumarinas y triterpenos; relacionándose con los datos de nuestra investigación que mostraron la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, cumarinas y taninos. Así también la investigación realizada por **Quiroz M. (2013)**, que determinó sobre el extracto de *U. dioica* la presencia de Terpenos y Flavonoides.

**Joshi et al. (2014)**, expone en la revisión bibliográfica hecha sobre la *U. dioica* principales principios químicos como los flavonoides, taninos, compuestos volátiles y ácidos grasos, polisacáridos, esteroides, terpenos, proteínas, vitaminas y minerales.



En la segunda hipótesis específica, los resultados mostraron que de las cuatro concentraciones de 25%,50%,75% y 100% del extracto etanólico de *Urtica urens L.* propuestas frente a *Escherichia coli* solo la de 75% y 100% mostraron tener actividad bacteriana, teniendo la concentración al 100% una inhibición del halo promedio de 16.53 mm. **Sulca T. (2010)** aplicó concentraciones al 0%, 25%, 50 %, 80 % y 100 % del extracto etanólico de *Urtica dioica L.* sobre *Pseudomonas Aeruginosa* siendo la del 50% la que presentó un valor superior en cuanto a la inhibición de halos promedio con 11.85 mm.

En la tercera hipótesis podemos mencionar que el extracto de etanólico de *Urtica urens L.* (Ortiga) para las concentraciones al 75% y 100% tienen el promedio de inhibición de los halos de 11.48 mm y 16.53 mm respectivamente en comparación al promedio de inhibición de los halos del ciprofloxacino que tuvo una medida de 21.76 mm por tanto se pudo comprobar estadísticamente que  $p < 0,01$  y por lo tanto no hay diferencia significativa entre el extracto al 100% y el ciprofloxacino. **Fernández N. (2016)** desarrolla esta investigación de *Urtica dioica* sobre *Staphylococcus aureus* con concentraciones de 20%, 40%, 60% 80% y 100 % utilizando como control positivo a la clindamicina siendo la concentración de 80% la que presentó una mayor inhibición de halo con 6.70 mm frente a la clindamicina que presentó una inhibición del halo 21.82 mm, demostrando que el fármaco es más eficaz que el extracto en estudio.

## CAPITULO V – CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

1. El extracto etanólico por maceración de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) presenta metabolitos secundarios como; flavonoides, compuestos fenólicos, cumarinas, taninos y aminoácidos.
2. El extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) presentaron actividad antibacteriana por el método de difusión en disco, determinando que la concentración al 100 % fue la que presentó mayor actividad antibacteriana con una medida promedio del halo de inhibición de 16.47 mm con un 75.65 % del porcentaje de efecto inhibitorio, seguida la concentración al 75 % con una medida promedio del halo inhibitorio de 11.49 mm con un 52.78% del porcentaje de efecto inhibitorio, sobre *Escherichia coli*, estudios in vitro.
3. El extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra) en la concentración al 100 % presentó similar actividad antibacteriana, comparado con el ciprofloxacino sobre cepas de *Escherichia coli*, in vitro.

## 5.2. Recomendaciones

1. El trabajo realizado queda como referencia para nuevos estudios y realizar nuevos ensayos experimentales sobre la actividad antibacteriana y fitoquímica de extractos vegetales de forma cuantitativa de las otras partes de la planta como raíces, tallos y flores, ya que poseen otras propiedades terapéuticos.
2. Promover el estudio de otras especies de la familia Urticaceae para futuras investigaciones. Se deberá realizar un monitoreo para detectar la mayor cantidad de compuestos con posibilidad de actividad farmacológica.
3. Analizar si los extractos obtenidos, poseen los mismos efectos antibacterianos en periodos de tiempo mayores al utilizado en esta investigación.
4. Los productos naturales utilizados como remedios caseros son comercializados en forma libre, y es esencial poner mayor énfasis en los controles de pureza y autenticidad de la planta, los procesos por lo que atraviesa el material vegetal hasta la manufactura como forma farmacéutica que se distribuyen.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarado M, Rodas G. "Influencia de la Altitud sobre Extractos de Malva Olorosa, Ortiga y Ajenjo mediante el Método de Dilución Seriada en Tubo de Ensayo". [Tesis para la Obtención del Título de Bioquímica Farmacéutica]. Ecuador. Universidad de Cuenca. Facultad de ciencias Químicas. 2009.
2. American Botanical Council. Stinging Nettle herb and leaf. [Internet]. EEUU: Herbal Medicine Institute; 1988-2018. [consultado 22 marzo 2019]- Disponible en: <http://cms.herbalgram.org/expandedE/StingingNettleherbandleaf.html?ts=1549950627&signature=a1da3a957cc2ac53f0c7fc1fe4c2128a&ts=1550037625&signature=4b0a56c0ae4aba18cb748774de2ac2a8>
3. Arango G. "Alcaloide y compuestos nitrogenados". Universidad de Antioquía. Medellín Colombia. 2008.
4. Arango, María. Plantas Medicinales: Botánica de interés médico [libro electrónico]. Colombia. 2006Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?isbn=9583392359>
5. ASSAL. Enfermedades Transmitidas por los Alimentos. [Internet]. Disponible en: <https://www.assal.gov.ar/eta/>
6. BETELGEUX. Escherichia coli: características, patogenicidad y prevención. [Internet]. [Actualizado 19 enero 2016, consultado 25 marzo 2019]. Disponible en: <http://www.betelgeux.es/blog/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>
7. Bruneton J, Farmacognosia. Fitoquímica Plantas Medicinales. 2ºEd.Acribia S.A. Zaragoza. 2001.
8. Campos E, Martínez M, Mendoza N. Actualidades Farmacológicas: Quinolonas. [Internet]. RFM UNAM. 2008. [Consultado 30 marzo 2019]; 51(4). Disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no51-4/RFM051000412.pdf>
9. Clive P, Curtis M, Sutter M, Walke M, Hoffman B. Farmacología Integrada. España: Hancourt; 1998.
10. Crespo M. Ortiga (2006). (*Urtica dioica* y *Urtica urens*). Plantas Medicinales para Enfermedades Reumáticas. Centro de investigación para fitoterapia. Ed. Complutense. Madrid- España. pg39-49.
11. Dirección Ejecutiva de Inteligencia Sanitaria. [Internet]. Perú: Boletín Epidemiológico N° 12. p.7 c2018 [Consultado el 14 de enero del 2019]. Obtenido de:

[http://www.diresalima.gob.pe/diresa/menu/archivo/epi\\_2018/BOLETIN%202018/BOLETIN%20EPIDEMIOLOGICO%20SE.%2012-2018%20.pdf](http://www.diresalima.gob.pe/diresa/menu/archivo/epi_2018/BOLETIN%202018/BOLETIN%20EPIDEMIOLOGICO%20SE.%2012-2018%20.pdf)

12. Eco agricultor. [Consultado 20 marzo 2019]. Disponible en: <https://www.ecoagricultor.com/como-preparar-macerado-de-ortiga-para-las-plantas-del-huerto-y-jardin/>
13. El Herbolario. [Internet]. Madrid: España; c2018 [actualizado 28 diciembre 2018, consultado 4 de marzo 2019]. Disponible en: <http://elherbolario.com/plantas-medicinales/item/1203-la-ortiga>
14. Fernández N. “Eficacia antimicrobiana del extracto de *Urtica dioica* sobre *Staphylococcus aureus*, estudios in vitro”. [Tesis pregrado]. Perú. Universidad Cesar Vallejo. Facultad de Ciencias Médicas; 2016.
15. Fernández R, Rodríguez C, Rodríguez I, Gómez F. Escherichia coli como causa de diarrea infantil. [Internet]. Revista Cubana Pediátrica vol. 75 (3). 2003. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75312003000300010](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312003000300010)
16. Figueroa C. Introducción a los Antibióticos [Internet]. 2016. Barcelona. Disponible en: <http://www.upiip.com/sites/upiip.com/files/Introducci%C3%B3n%20a%20los%20anti%20bi%C3%B3ticos.Julio%202016.pdf>
17. Flora de pina de Ebro y su Comarca. Familia Urticaceae. [Internet]. Javier Blasco Zumeta; c2013. [actualizado 21 junio 2018; consultado 20 marzo 2019]. Disponible en: <http://monteriza.com/wp-content/uploads/flora/153.urtica-urens.pdf>
18. Flórez J. Farmacología humana. 5ª Edición. España: ElServier Manson; 2015.
19. Freire K. “Usos de dos métodos de extracción fitoquímica a base de Jengibre (*Zingiber officinale* L.), Oreganón (*Plectranthus amboinicus*) y Ortiga (*Urtica dioica*), para el control in vitro de la monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par)”. [Tesis]. Ecuador. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. 2017
20. Gordillo F. “Estudio farmacognóstico de los Productos Naturales procesados de uso medicinal de *Urtica dioica* L. (ortiga) y de su extracto vegetal”. [Tesis para obtención del título de Química Farmacéutica]. Ecuador. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. 2018
21. Guamán F. “Determinación y Comparación de la Actividad Antibacteriana in Vitro del Extracto de dos Especies de Ortiga sobre Bacterias de Importancia Clínica”. [Tesis para optar el grado académico de Bioquímico Farmacéutico]. Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015.

22. Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de difusión de Disco. [Internet]. disponible en:  
<http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
23. Introducción a la Farmacognosia. [Interne]. Disponible en:  
<http://farmacognosia-farmacialadech.blogspot.com/>
24. Kuklinski C, Farmacognosia Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona. 2000. Editorial Omega.
25. León, B et al. El libro rojo de las plantas endémicas del Perú. [Internet]. 2006. Perú. [Consultado 11 marzo del 2019]. Disponible en:  
<http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v13n2/pdf/a121.pdf>
26. Lock de Ugaz, O. Investigación Fitoquímica. 2º Edición. Lima, Perú. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica.1994
27. López Y. “Evaluación de la Toxicidad Aguda y Subaguda en ratones de los extractos hidroalcohólicos de las especies vegetales: *Urtica urens L.* (ortiga) y *Piper elongatum poir.* (matico), utilizadas tradicionalmente en Bolivia para afecciones inflamatorias, reumáticas e infecciosas” [Tesis]. Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés. 2012.
28. Macías A, Suárez G. “Estudios de los Parámetros de Calidad de las tabletas de Ciprofloxacina 500 mg Genéricos, elaborados por dos laboratorios farmacéuticos del Ecuador y su comparación con el Producto Innovador”. [Trabajo de investigación]. Ecuador. Universidad de Guayaquil. 2017
29. Margall M, Domínguez A, Prats G, Salleras L. Escherichia coli enterohemorrágica [Internet]. Revista Española Salud Pública vol. 71 (5). Disponible en:  
[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1135-57271997000500002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57271997000500002)
30. Marrassini C, Gorzalczany S, Ferraro G. Actividad analgésica de dos especies de *Urtica* con usos etnomédicos en la República Argentina (IQUINEFA). Universidad de Buenos Aires. Argentina. 2010.p.21-29.
31. Martínez M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos [Internet]. La Habana: Universidad de la Habana; c2002. [Consultado 20 marzo 2019]. Disponible en:  
<https://vdocuments.site/metodos-de-analisis-de-drogas-y-extractos-de-dra-migdalia-miranda-martinez.html>
32. Ministerio del ambiente. Listado de Especies de Flora Silvestre Cites - Perú. Ministerio del Ambiente. 2018; 1(1):1-236.
33. Moscoso M. Secretos Medicinales de la Flora Peruana y Guía de la Maternidad [libro electrónico]. Perú: Alpha; 1997. 4º Ed.

34. Mühlhauser M. Laboratorio de Microbiología: Conocimientos básicos para un Clínico. [Revista online médica clínica] 2014 [Consultado 20 marzo 2019]; 25(3) 569-579. Disponible en:  
[https://www.clinicalascondes.cl/Dev\\_CLC/media/Imagenes/PDF%20revista%20m%C3%A9dica/2014/3%20abril/19-Dra.Mulhauser.pdf](https://www.clinicalascondes.cl/Dev_CLC/media/Imagenes/PDF%20revista%20m%C3%A9dica/2014/3%20abril/19-Dra.Mulhauser.pdf)
35. Murray P. Microbiología Médica. 7° Edición. España 2014.pp 166, 261
36. Ochoa M. “Estudio bibliográfico de las propiedades y aplicaciones medicinales de la ortiga mayor (urtica dioica)”. [Tesis]. Ecuador. Universidad Católica de Cuenca. 2014.
37. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Prevención de la *Escherichia coli* en los Alimentos. [Internet]. Disponible en:  
[http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/agns/pdf/Preventing\\_Ecoli\\_es.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf)
38. Organización Mundial de la Salud. Definición de Medicinal tradicional. [Internet]. Ginebra: Dra. Xiaorui Zhang; c2019 [consultada 13 febrero 2019]. Disponible en:  
[https://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/definitions/es/](https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/)
39. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades de Transmisión alimentaria en niños menores de 5 años. [Internet]. Ginebra c2015 [Publicado el 3 diciembre del 2015; consultado 6 de marzo 2019]. Disponible en:  
<https://www.who.int/es/news-room/detail/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>
40. Organización mundial de la Salud. Enfermedades de Transmisión alimentaria. [Internet]. Washington-Estados Unidos. [consultado 25 marzo 2019]. Disponible en:  
[https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=es)
41. Organización Mundial de la Salud. Lista de bacterias para las que se necesita urgentemente nuevos antibióticos. [Internet]. Ginebra c2017 [publicado 27 febrero 2017; consultado 16 febrero 2019]. Disponible en:  
<https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
42. Plantas Vasculares: Urtica urens. [Internet]. Uruguay: Universidad de la República; c2011 [consultado 17 marzo 2019]. Disponible en:  
[http://inbuy.fcien.edu.uy/fichas\\_de\\_especies/DATAonline/DBASEImpresiones/Urtica\\_urens\\_i.pdf](http://inbuy.fcien.edu.uy/fichas_de_especies/DATAonline/DBASEImpresiones/Urtica_urens_i.pdf)
43. Porcuna J, Ficha Técnica Plantas: La ortiga: Urtica urens y Urtica dioica. [Internet]. Valencia. Servicio de Sanidad Vegetal. 2010. [consultado 22 febrero 2019]. Disponible en:

[https://www.agroecologia.net/recursos/Revista\\_Ae/Ae\\_a\\_la\\_Practica/fichas/N2/Revista\\_AE\\_N%C2%BA2\\_ficha\\_planta.pdf](https://www.agroecologia.net/recursos/Revista_Ae/Ae_a_la_Practica/fichas/N2/Revista_AE_N%C2%BA2_ficha_planta.pdf)

44. Quimbiulco E. Análisis Fitoquímico de la Ortiga negra (*urtica dioica*). Ecuador. Disponible en:  
<https://es.slideshare.net/LudoCiencias/fitoquimica-erick-quimbiulco>
45. Rainer W. Bussmann, Douglas Sharon. Plantas Medicinales de los Andes y la Amazonía. La Flora Mágica y Medicinal del Norte del Perú. 1ª ed. Perú: Biblioteca Nacional del Perú; 2015.
46. Ramírez R, Yllatupa L. “Efecto Hipotensor in vivo del extracto seco acuoso de las partes aéreas de *Urtica magellanica* (ortiga) en ratas hipertensas inducidas por L-NAME y Determinación de la Toxicidad aguda”. [Tesis]. Perú. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco. 2013.
47. Seadwy H, El. Seoud, Kabbash K, El-Aasr, M & Attia, G. (2018). Phytomedical and biological investigation of *Urtica urens* growing in Egypt. International Research Journal of Pharmacy, 24-35.
48. Sharapin, N. et al. Fundamentos de Tecnología de Productos Terapéuticos. [En línea]. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, 2000 [Consultado: 30-03-2019].
49. Sociedad Española de Medicina Interna. Tratamiento Antimicrobiano Domiciliario Endovenoso (TADE). [Internet]. (6) 2008. [Consultado el 4 de abril del 2019]. Disponible en:  
<https://www.fesemi.org/sites/default/files/documentos/publicaciones/capitulo-15.pdf>
50. Steinmann W. Víctor. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Urticaceae. [Internet]. 2005; 82 (2). Disponible en:  
<http://incolbajio.incol.mx/floradelbajio/documentos/fasciculos/ordinarios/Urticaceae%20134.pdf>
51. Sulca T. “Determinación de la Actividad Antimicrobiana de los Extractos de *Acmella repens* (Botoncillo), *Urtica dioica* (Ortiga negra) y *Sonchus oleraceus* (Kana yuyo), plantas registradas en la Parroquia La Esperanza- Imbabura, sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*, causantes de Enfermedades Bucofaríngeas. [ Tesis para optar el grado académico de Ingeniería en Biotecnología]. Ecuador. Escuela Politécnica del Ejército. 2010
52. Tanino. La revolución enológica [Internet]. José Manuel Álvarez. 2007. Disponible en:  
[http://www.acenologia.com/aeb/pdf/info\\_taninos\\_jmalvarez.pdf](http://www.acenologia.com/aeb/pdf/info_taninos_jmalvarez.pdf)
53. Terapéutica Farmacológica [Internet]. Disponible en:  
<http://terf307.blogspot.com/2015/10/medicamentos-anti-microbianos.html>
54. Upton, Roy. Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine *Elservier*. [Internet]. 2013. Estados Unidos. Vol3. American Herbal Medicine. Pp9-38. [Consultado el 24 marzo 2019]. Disponible en:



<https://tryl2012.blogspot.com/2015/04/2013-stinging-nettles-leaf-urtica.html>

55. Urtica sp. Farmaconsejos. [Internet]. 2015. [Consultado el 13 de marzo el 2019]. Disponible en:  
<http://www.farmaconsejos.com/plantas-medicinales/ortiga/>
56. Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales [Internet]. [Consultado 24 marzo 2019]. Disponible en:  
<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema12.pdf>
57. Vademécum. Ciprofloxacino [Internet]. Disponible en:  
<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c058.htm>
58. Velázquez. Farmacología Básica y clínica. 18º Edición. Madrid-España: Médica Panamericana; pp.792-796.1998.
59. Yáñez G. "Investigación de la Actividad Antimicrobiana y Fitoquímica de Extractos de Plantas Medicinales frente a los Microorganismos Patógenos *Escherichia coli* y *Candida albicans*". [Tesis para la Obtención del Título de Ingeniería Bioquímica]. Ecuador. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. 2014.

## **ANEXOS**

## ANEXO N° 1. Matriz de Consistencia

| "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra), sobre <i>Escherichia coli</i> , IN VITRO"  |   |  |  |                |  |  |
|--|---|--|--|----------------|--|--|
| PROBLEMA GENERAL   | OBJETIVO GENERAL  | HIPÓTESIS GENERAL  | VARIABLE INDEPENDIENTE   | DIMENSIONES    | INDICADORES  | METODOLOGÍA  |
| El extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra), presentará actividad antibacteriana, sobre <i>Escherichia coli</i> , in vitro                                       | Determinar si el extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra), presente actividad antibacteriana, sobre <i>Escherichia coli</i> , in vitro                                    | El extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra), presenta actividad antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i> , in vitro.                                     | Extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga) | Fitoquímico    | Presencia de metabolitos secundarios.<br>Concentraciones del extracto: 25 %, 50 %, 75 %, 100 %.          | <b>Enfoque:</b><br>Cuantitativo<br><br>Medición del diámetro de los halos.<br><br><b>Diseño:</b><br>Experimental   |
| PROBLEMAS ESPECÍFICOS  | OBJETIVOS ESPECÍFICOS   | HIPÓTESIS ESPECÍFICAS  | VARIABLE DEPENDIENTE   |                |  | <b>Tipo:</b><br>Observacional  |
| ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra)?  | Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra)   | Existen metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra).  |  |                |  | <b>Población:</b><br>Conformada por las cepas de <i>Escherichia coli</i>   |
| ¿Existirá una concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) que presente actividad antibacteriana sobre, <i>Escherichia coli</i> , in vitro         | Determinar qué concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) presenta actividad antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i> , in vitro.                     | Existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) que presente actividad antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i> , in vitro.        | Actividad antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i> , in vitro  | Microbiológico | <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)<br>Medición del diámetro de los halos.<br>Tiempo: 24, 48 y 72 horas | <b>Muestra:</b><br>12 placas<br><br><b>Técnica:</b><br>Difusión en disco<br>Método Kirby-Bauer   |
| ¿Presentará similar actividad antibacteriana el extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) comparado con Ciprofloxacino, sobre <i>Escherichia coli</i> , in vitro? | Determinar si la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) es similar comparado con Ciprofloxacino, sobre <i>Escherichia coli</i> , in vitro. | Existe similar actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga negra) comparado con Ciprofloxacino, sobre <i>Escherichia coli</i> , in vitro. |  |                |  | <b>Instrumento:</b><br>Ficha de observación Ad-hoc<br><br><b>Procesamiento y Análisis de datos</b><br><br>Tablas y gráficos procesados en el programa estadístico SPSS ANOVA y TUKEY |

ANEXO N° 2. Operacionalización de Variables

| VARIABLES  | DIMENSIONES    | INDICADORES   | INSTRUMENTO                 |
|--|----------------|---|-----------------------------|
| V.I.   |                | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificación de los metabolitos secundarios.</li> <li>• Concentraciones del extracto:<br/> Concentración al 25%<br/> Concentración al 50 %<br/> Concentración al 75 %<br/> Concentración al 100 %<br/> Ciprofloxacino</li> </ul> | Ficha de observación Ad-hoc |
| Extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens L.</i> (Ortiga negra) |                |   |                             |
| V.D.   | MICROBIOLÓGICO | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cepas de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)</li> <li>• Medición del diámetro de los Halos de inhibición.</li> <li>• Tiempo de la incubación: 24, 48 y 72 horas</li> </ul>  | Ficha de observación Ad-hoc |
| Actividad Antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i>                   |                |   |                             |

**ANEXO N° 3. Constancia de Identificación Taxonómica *Urtica urens* L.  
(Ortiga)**

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

---

*"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"*

**CONSTANCIA N° 004-USM-2019**

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

La muestra vegetal (planta completa) recibida de **Nelysa Catherine Velásquez Soto** y **Elizabeth Milagros Condori Collante**, estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Urtica urens* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: HAMAMELIDAE**

**ORDEN: URTICALES**

**FAMILIA: URTICACEAE**

**GENERO: *Urtica***

**ESPECIE: *Urtica urens* L.**

Nombre vulgar: "ortiga negra"  
Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría

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

Lima, 15 de enero de 2019

  
Mag. **ASUNCIÓN CANO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

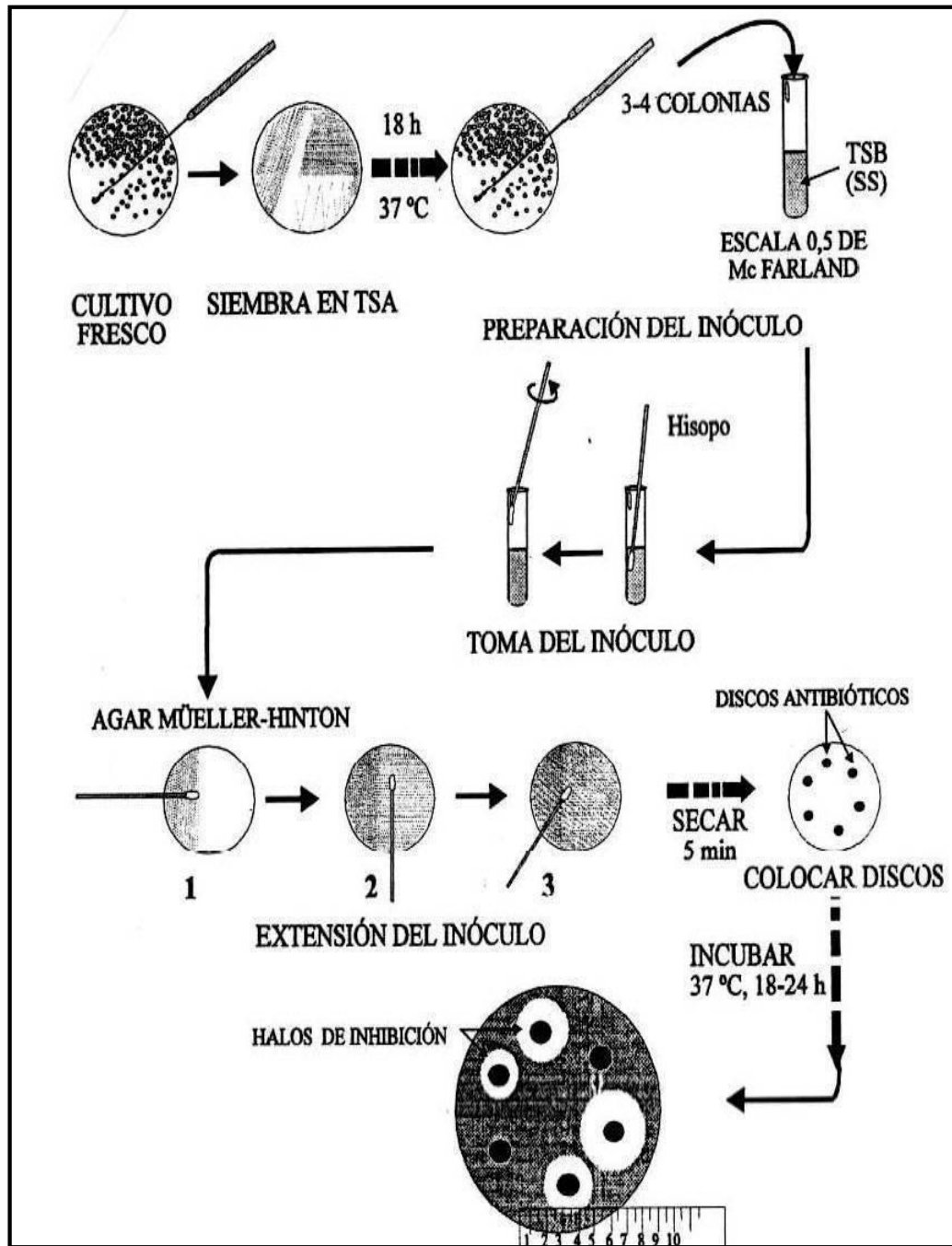
ACEJdb

**ANEXO N° 4. Certificado de Calidad Cepa *Escherichia coli* ATCC 25922**



| Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release   |  |
|---|--|
| <b>Specifications</b><br>Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i><br>Catalog Number: 0335<br>Lot Number: 335-211<br>Reference Number: ATCC® 25922™<br>Purity: Pure<br>Passage from Reference: 3  | Expiration Date: 2018/01<br>Release Information:<br>Quality Control Technologist: Tracy A. Blenker<br>Release Date: 2016/10/13   |
| <b>Performance</b><br><b>Macroscopic Features:</b><br>2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly eros edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, eros edge & rough<br><b>Microscopic Features:</b><br>Gram negative straight rod  | <b>Medium:</b><br>SBAP<br><b>Method:</b><br>Gram Stain (1)   |
| <b>ID System:</b> MALDI-TOF<br>See attached ID System results document.   | <b>Other Features/ Challenges: Results</b><br>(1) Oxidase (Kovacs): negative<br>Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive<br>(1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 22 mm<br>(1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm<br>(1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm |
| <p><i>Amanda Kuperus</i></p> <p>Amanda Kuperus<br/>                     Quality Control Manager<br/>                     AUTHORIZED SIGNATURE</p>   |  |
| <p><small>Disclaimer: The lot digit(s) of the lot number appearing on the product label and packaging are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual lot of release.</small></p> <p><small>Note for Users: Although the 24hr/2 panel uses many conventional tests, the unique arrangement of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Additional products are available in a recognized culture collection.</small></p> <p><small>(1) The ATCC Licensed Database System, the ATCC Licensed Database word marks and the ATCC writing marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. &amp; related to the name trademarks and/or cell products derive from ATCC® culture.</small></p> <p><small>(2) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005</small></p> |  |
| <p>TESTING CERT #2655/01</p>  |  |

**ANEXO N° 5. Evaluación de la Actividad Antibacteriana por el método de Kirby Bauer**



**Fuente:** Microbiología General - Antibiógrama

ANEXO N° 6. Ficha de Recolección de datos para la “Actividad Antibacteriana del Extracto Etanólico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga), sobre *Escherichia coli*, in vitro”.

N° .....



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

FICHA DE OBSERVACION DE RECOLECCION DE DATOS

Para la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanolico de las hojas de *Urtica urens* L. (Ortiga negra), sobre *Escherichia coli*, in vitro.

(Juicio de expertos)

| PRUEBA DE SOLUBILIDAD  |             |            |         |        |      |
|--|-------------|------------|---------|--------|------|
| SOLVENTES  | CICLOHEXANO | CLOROFORMO | ACETONA | ETANOL | AGUA |
| EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE <i>Urtica urens</i> L. (Ortiga) |             |            |         |        |      |

**Método:**

- En un tubo de ensayo se adicionó 1ml de Ciclohexano, luego se agregó 2ml del extracto.
- En un tubo de ensayo se adicionó 1ml de Etanol, luego se agregó 2ml del extracto.
- En un tubo de ensayo se adicionó 1ml de Cloroformo, luego se agregó 2ml del extracto.
- En un tubo de ensayo se adicionó 1ml de Acetona, luego se agregó 2ml del extracto.
- En un tubo de ensayo se adicionó 1ml de Agua destilada, luego se agregó 2ml de MP y se agregó 2ml del extracto.

|         | No soluble | Poca solubilidad | Regular Solubilidad | Mayor solubilidad |
|---------|------------|------------------|---------------------|-------------------|
| LEYENDA | (-)        | (+)              | (++)                | (+++)             |

\_\_\_\_\_  
Firma del experto





N° .....

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

## FICHA DE OBSERVACION DE RECOLECCION DE DATOS

Para la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens L.*  
(Ortiga negra), sobre *Escherichia coli*, in vitro.

(Juicio de expertos)

## Tamizaje Fitoquímica

| GRUPO FITOQUÍMICO        | REACTIVO                              | RESULTADO | INTERPRETACIÓN |
|--------------------------|---------------------------------------|-----------|----------------|
| CARBOHIDRATOS GENERALES  | Reactivo Molisch                      | (+)       | Escaso         |
|                          | Reactivo 2,4 DNFH                     | (++)      | Regular        |
| CARBOHIDRATOS REDUCTORES | Fehling A + Fehling B                 | (-)       | Regular        |
|                          | Tollens                               | (-)       | Ausencia       |
| Flavonoides              | Shinoda                               | (+++)     | Abundante      |
|                          | Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> | (++)      | Regular        |
| COMPUESTOS FENÓLICOS     | FeCl <sub>3</sub> 5 %                 | (++)      | Regular        |
| CUMARINAS                | NaOH 10 %                             | (++)      | Regular        |
| TANINOS                  | Gelatina salada                       | (++)      | Regular        |
| ALCALOIDES               | Reacción Dragendorff                  | (-)       | Ausencia       |
|                          | Reacción Mayer                        | (-)       | Ausencia       |
|                          | Reacción Wagner                       | (-)       | Ausencia       |
| AMINOÁCIDOS              | Reacción con Ninhidrina               | (+)       | Escaso         |
| SAPONINAS                | Reacción con Agua                     | (+)       | Escaso         |
| TRITERPENOS              | Reacción Lieberman-Burchard           | (+)       | Escaso         |

### 1. Identificación de carbohidratos generales

- **Reactivo Molisch:** en un tubo de ensayo se adicionó 2 ml del extracto vegetal, luego se agregó V gotas del reactivo y se agitó lentamente.
- **Reactivo 2,4 DNFH:** en un tubo de ensayo se añadió 2 ml de extracto vegetal, luego se adicionó X gotas del reactivo, se agitó y se llevó luego a baño maría por 10 min.

### 2. Identificación de azúcares reductores

- **Reactivo Fehling:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó III gotas del reactivo y se llevó a baño maría por 5 minutos.
- **Reactivo Tollens:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó V gotas del reactivo y se agitó lentamente.

### 3. Identificación de Flavonoides

- **Reactivo Shinoda:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó X gotas de reactivo seguido de las cintas de Mg metálico y luego 10 gotas de HCl al 1%.
- **Reactivo Pb (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se adicionó III gotas de reactivo.

### 4. Identificación de compuestos Fenólicos

- **Reactivo FeCl<sub>3</sub> al 5 %:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó II gotas de reactivo y se agitó lentamente.

### 5. Identificación de Cumarinas

- **Reactivo NaOH 10 %:** se agregó a un tubo de ensayo 2 ml del extracto vegetal, luego se adicionó II gotas de reactivo, se evidencia una formación de precipitado amarillo intenso.

### 6. Identificación de Taninos

- **Reactivo NaCl 1%:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se añadió V gotas de reactivo.
- **Reactivo gelatina:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó V gotas de reactivo.

### 7. Identificación de Alcaloides:

- **Reactivo Dragendorff:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se añadió II gotas de reactivo, se calentó hasta sequedad y se agregó HCl al 1%.
- **Reactivo Mayer:** en un tubo de ensayo se agregó 2ml de extracto vegetal, luego se agregó III gotas de reactivo, se calentó hasta sequedad y se agregó HCl al 1% y NaCl.
- **Reactivo Wagner:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó III gotas de reactivo, se calentó hasta sequedad y luego se añadió HCl 1 %.

### 8. Identificación de Aminoácidos o Aminas

- **Ninhidrina:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto, luego se agregó II gotas de reactivo.

### 9. Identificación de Saponinas

- **Prueba de espuma:** el ensayo se considera positivo si hay presencia de espuma en la superficie de la muestra y persiste por más de 2 minutos.
- **Prueba de Liebermann-Burchard:** En un tubo de ensayo se adicionó 2ml del extracto vegetal, luego se agregó 1ml de agua destilada, seguido II gotas de reactivo Anhídrido acético y I gota de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### Interpretación de la cantidad de metabolitos presentes

|         | Ausencia | Escaso | Regular | Abundante |
|---------|----------|--------|---------|-----------|
| LEYENDA | (-)      | (+ )   | (++)    | (++)      |

---

Firma del experto

N° .....



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA**

**FICHA DE OBSERVACION DE RECOLECCION DE DATOS**

Para la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Urtica urens L.* (Ortiga), sobre *Escherichia coli*, in vitro.

(Juicio de expertos)

Lectura de porcentaje de actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* a las 24, 48 y 72 horas.

| Concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Urtica urens L.</i> (Ortiga) | N° placa Petri | Tiempo (horas) |    |    | % Inhibitorio Efecto inhibitorio Relativo |
|--|----------------|----------------|----|----|---|
|  |                | 24             | 48 | 72 |   |
| 25 %   | 1              |                |    |    |   |
|  | 2              |                |    |    |   |
|  | 3              |                |    |    |   |
| 50 %   | 1              |                |    |    |   |
|  | 2              |                |    |    |   |
|  | 3              |                |    |    |   |
| 75 %   | 1              |                |    |    |   |
|  | 2              |                |    |    |   |
|  | 3              |                |    |    |   |
| 100 %  | 1              |                |    |    |   |
|  | 2              |                |    |    |   |
|  | 3              |                |    |    |   |
| Ciprofloxacino   | 1              |                |    |    |   |

\_\_\_\_\_  
Firma del experto



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA**

**HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO**

**FICHA DE OBSERVACION Y DE RECOLECCION DE DATOS**

"ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Urtica urens* L. (Ortiga),  
SOBRE *Escherichia coli*, IN VITRO "

**Datos Generales**

- 1.7.-Apellido y nombre del experto: Pinedo Pérez Newton Marco  
 1.8.-Cargo e institución donde labora: Docente UIV  
 1.9.-Grado Académico: Magister Profesional: Q.F. 18120  
 1.4.- Nombre de Instrumento y motivo de evaluación: Ficha de observación y Recolección de Datos  
 1.5.- Autor de Instrumento: Andrés Collante E. Hilario y Velásquez Soto Nelson C.  
 1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación

Nota: Para cada criterio se consieraron las escalas del 1 al 5 en donde:

|             |         |             |              |                  |
|-------------|---------|-------------|--------------|------------------|
| 1.-Muy poco | 2.-Poco | 3.- Regular | 4.-Aceptable | 5.-Muy Aceptable |
|-------------|---------|-------------|--------------|------------------|

| INDICADORES          | CRITERIOS   | Puntuacion |   |   |   |      |
|----------------------|---|------------|---|---|---|------|
|                      |   | 1          | 2 | 3 | 4 | 5    |
| 1.-Claridad          | Esta formulado el instrumento con un lenguaje apropiado.  |            |   |   |   | X    |
| 2.- Objetividad      | El instrumento evidencia recojo de datos observables.   |            |   |   | X |      |
| 3.-Actualidad        | El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnológicos.  |            |   |   |   | X    |
| 4.- Organización     | El instrumento tiene una organización logica.   |            |   |   |   | X    |
| 5.-Suficiente        | Son suficientes en cantidad y calidad los elemntos que conforman el instrumento.                                  |            |   |   |   | X    |
| 6.-Intencionalidad   | Es adecuado para valorar aspectos del sistema de evaluacion y desarrollo de capacidades cognoscitiva.             |            |   |   |   | X    |
| 7.-Consistencia      | Se basa en aspectos teoricos científicos del periodismo como de las ciencias sociales.                            |            |   |   |   | X    |
| 8.-Coherencia        | Entre coherencia y relacion los indices, indicadores, las dimensiones,y las variables.                            |            |   |   | X |      |
| 9.-Metodologia       | La Estrategia responde al proposito de la problemática.   |            |   |   |   | X    |
| 10.-Pertinencia      | El instrumento muestra la relacion entre los componentes de la investigacion y su adecuacion al metodo científico |            |   |   |   | X    |
| <b>Total Parcial</b> |   |            |   |   |   | 9/10 |
| <b>Total</b>         |   |            |   |   |   | 90%  |

**SUGERENCIAS**

Opinion de Aplicabilidad: total

Promedio de Validacion: 95%

[Firma]

Firma del Experto

COFP 18120

**Puntuacion**

|         |                       |
|---------|-----------------------|
| 11 - 20 | No valido, reformular |
| 21 - 30 | No valido, modificar  |
| 31 - 40 | Valido, mejorar       |
| 41 - 50 | Valido, aplicar       |



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA**

**HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO**

**FICHA DE OBSERVACION Y DE RECOLECCION DE DATOS**

"ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Urtica urens L.* (Ortiga),  
SOBRE *Escherichia coli*, IN VITRO "

**Datos Generales**

- 1.1.-Apellido y nombre del experto: Jacinto Heruilo, Pedro  
 1.2.-Cargo e institucion donde labora: Docente  
 1.3.-Grado Academico: Mag. i. s. te Profesional: Química Farmacéutica  
 1.4.- Nombre de Instrumento y motivo de evaluacion: Ficha de recolección y observación de datos  
 1.5.- Autor de Instrumento: Condori Callante E. Milagros - Velasquez Soto Nelysa C.  
 1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación

Nota: Para cada criterio se consieraron las escalas del 1 al 5 en donde:

|             |         |             |              |                  |
|-------------|---------|-------------|--------------|------------------|
| 1.-Muy poco | 2.-Poco | 3.- Regular | 4.-Aceptable | 5.-Muy Aceptable |
|-------------|---------|-------------|--------------|------------------|

| INDICADORES          | CRITERIOS   | Puntuacion |   |   |   |   |
|----------------------|---|------------|---|---|---|---|
|                      |   | 1          | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1.-Claridad          | Esta formulado el instrumento con un lenguaje apropiado.  |            |   |   |   | X |
| 2.- Objetividad      | El instrumento evidencia recojo de datos observables.   |            |   |   |   | X |
| 3.-Actualidad        | El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnologicos.  |            |   |   |   | X |
| 4.- Organización     | El instrumento tiene una organización logica.   |            |   |   |   | X |
| 5.-Suficiente        | Son suficientes en cantidad y calidad los elemntos que conforman el instrumento.                                  |            |   |   | X |   |
| 6.-Intencionalidad   | Es adecuado para valorar aspectos del sistema de evaluacion y desarrollo de capacidades cognoscitiva.             |            |   |   | X |   |
| 7.-Consistencia      | Se basa en aspectos teoricos científicos del periodismo como de las ciencias sociales.                            |            |   |   | X |   |
| 8.-Coherencia        | Entre coherencia y relacion los indices, indicadores, las dimensiones,y las variables.                            |            |   |   |   | X |
| 9.-Metodologia       | La Estrategia responde al proposito de la problemática.   |            |   |   |   | X |
| 10.-Pertinencia      | El instrumento muestra la relacion entre los componentes de la investigacion y su adecuacion al metodo científico |            |   |   |   | X |
| <b>Total Parcial</b> |   |            |   |   |   |   |
| <b>Total</b>         |   |            |   |   |   |   |

**SUGERENCIAS**

Opinion de Aplicabilidad: Valido Aplicar

Promedio de Validacion: 47

**Puntuacion**

|         |                       |
|---------|-----------------------|
| 11 - 20 | No valido, reformular |
| 21- 30  | No valido, modificar  |
| 31- 40  | Valido, mejorar       |
| 41- 50  | Valido, aplicar       |

Firma del Experto

## Panel Fotográfico

### ➤ Recolección y Separación



Fotografía 1. Recolección y separación de las hojas de Ortiga.



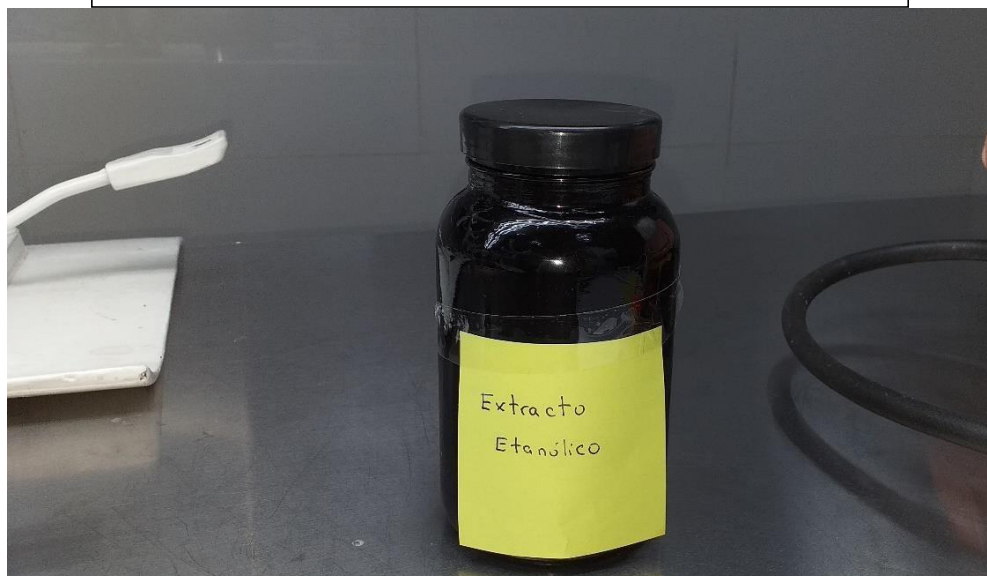
**Fotografía 2. Colección de las hojas frescas de *Urtica urens*  
L. (Ortiga)**



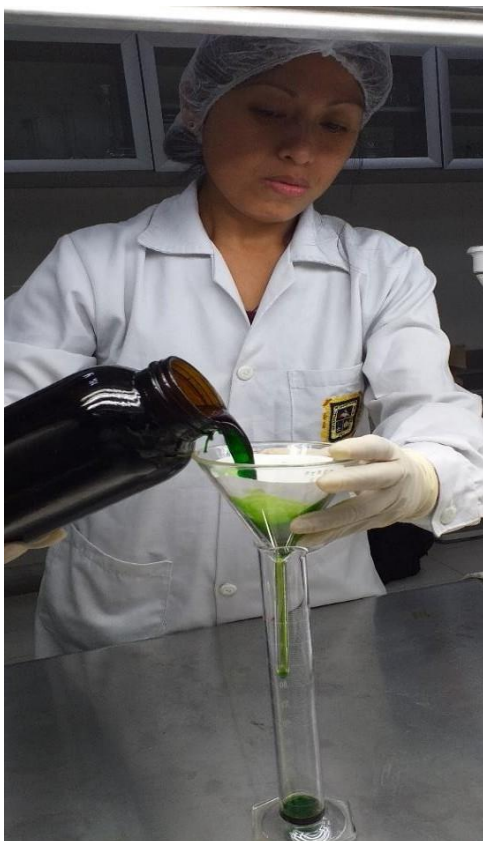
**Fotografía 3. Preparación del material vegetal y del extracto**



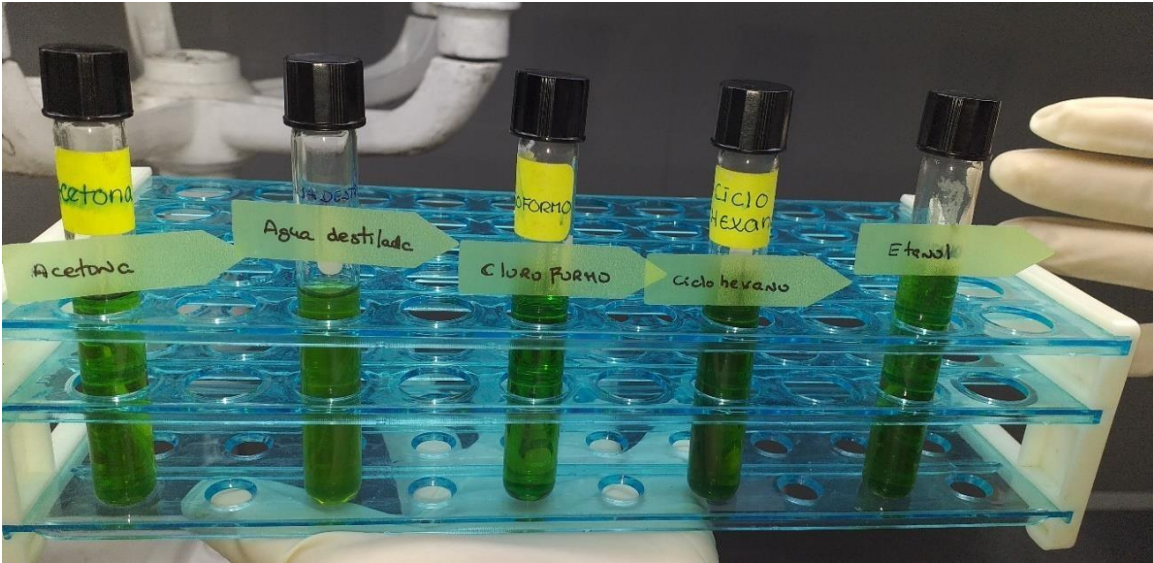
Fotografía 4. Obtención del extracto etanólico



Fotografía 5. Filtrado del extracto etanólico de *Urtica urens* L.

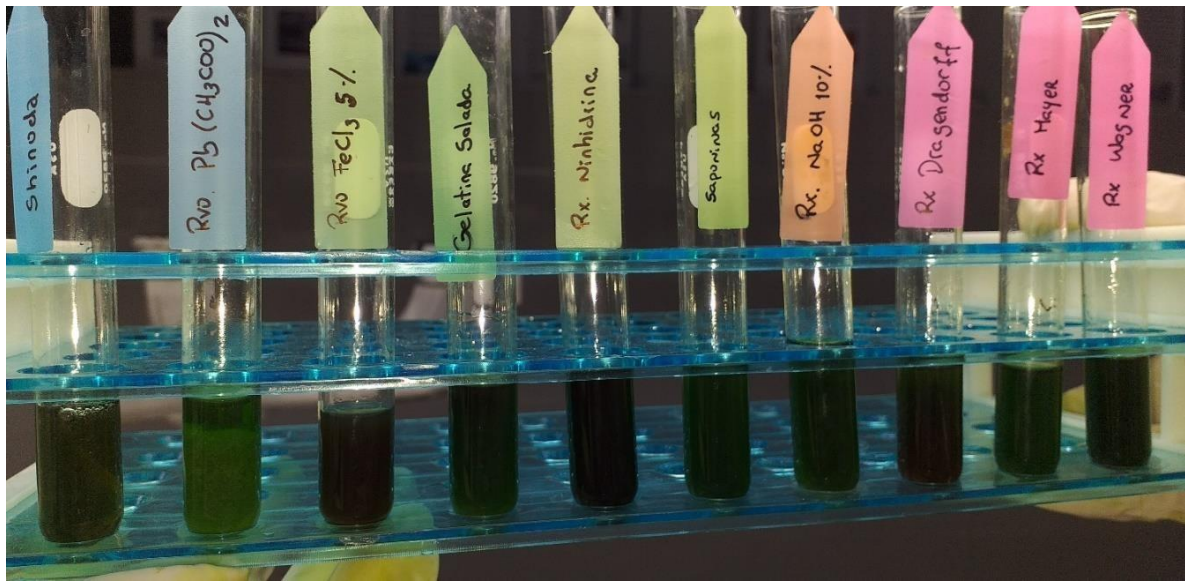


Fotografía 6. Prueba de Solubilidad

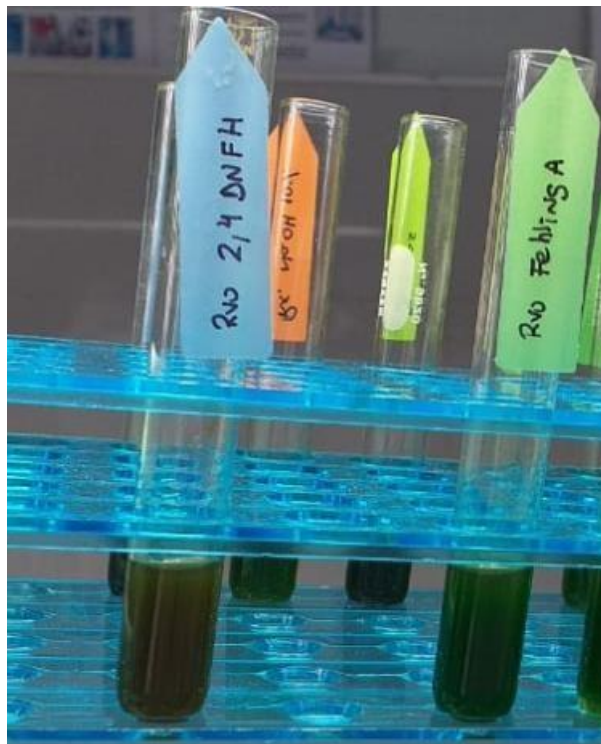


Fotografía 7. Tamizaje Fitoquímico con los respectivos reactivos

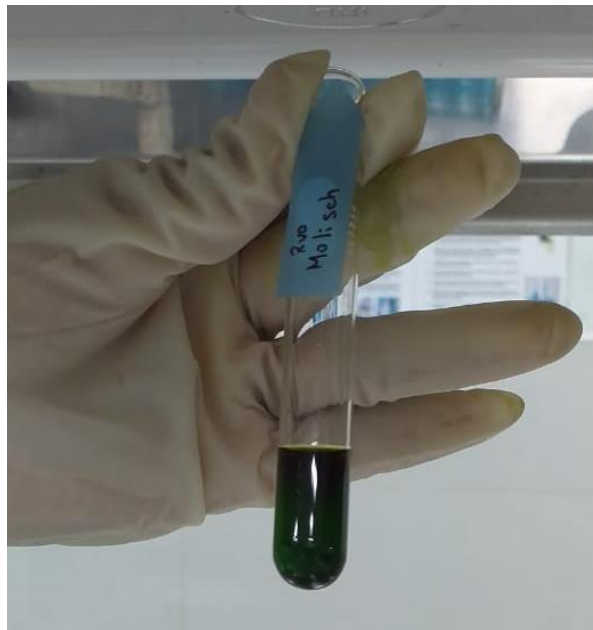




➤ Fotografía 8. Identificación de Carbohidratos Reductores



➤ **Fotografía 9. Identificación de Carbohidratos Generales**



➤ **Fotografía 10. Identificación de Flavonoides**

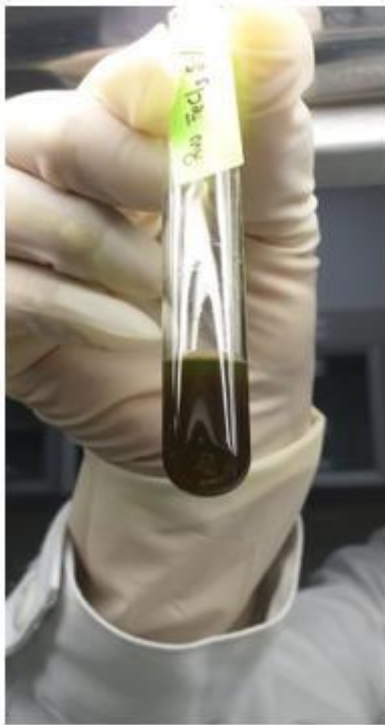


Shinoda



Pb (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>

➤ **Fotografía 11. Identificación de compuestos fenólicos**



FeCl<sub>3</sub> 5%

➤ **Fotografía 12. Identificación de taninos**



Gelatina salada

➤ **Fotografía 13. Identificación de Aminoácidos**



Ninhidrina

➤ **Fotografía 14. Identificación de Saponinas**



Agua

➤ **Fotografía 15. Identificación de Saponinas**



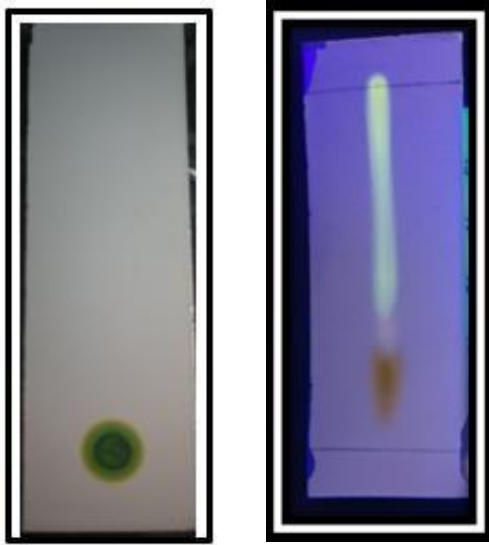
NaOH 10%

➤ **Fotografía 16. Identificación de Alcaloides**



1. Rvo. Dragendorff
2. Rvo. Mayer
3. Rvo. Wagner

**Fotografía 17. Cromatografía en capa fina del extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga)**



El revelado de la placa con UV a 254 nm con reactivo de Dragendorff, con UV fluorescencia, se observó la presencia de compuestos con fluorescencia verde que corresponderían a 6 flavonoides diferentes.

**Fotografía 18. Preparación del Estándar (0,5 Mc. Farland) para el inóculo**

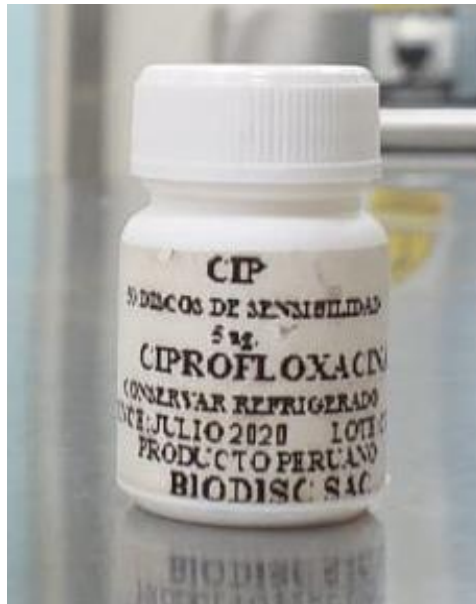


| TUBO | Cl <sub>2</sub> Ba 1% | SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> 1% | u.f.c/ml            |
|------|-----------------------|-----------------------------------|---------------------|
| 1    | 0,1                   | 9,9                               | 3,0x10 <sup>8</sup> |
| 2    | 0,2                   | 9,8                               | 6,0x10 <sup>8</sup> |
| 3    | 0,3                   | 9,7                               | 9,0x10 <sup>8</sup> |
| 4    | 0,4                   | 9,6                               | 1,2x10 <sup>9</sup> |
| 5    | 0,5                   | 9,5                               | 1,5x10 <sup>9</sup> |
| 6    | 0,6                   | 9,4                               | 1,8x10 <sup>9</sup> |
| 7    | 0,7                   | 9,3                               | 2,1x10 <sup>9</sup> |
| 8    | 0,8                   | 9,2                               | 2,4x10 <sup>9</sup> |
| 9    | 0,9                   | 9,1                               | 2,7x10 <sup>9</sup> |
| 10   | 1,0                   | 9,0                               | 3,0x10 <sup>9</sup> |





Fotografía 19. Disco de Sensibilidad LyD Insumed. Ciprofloxacino



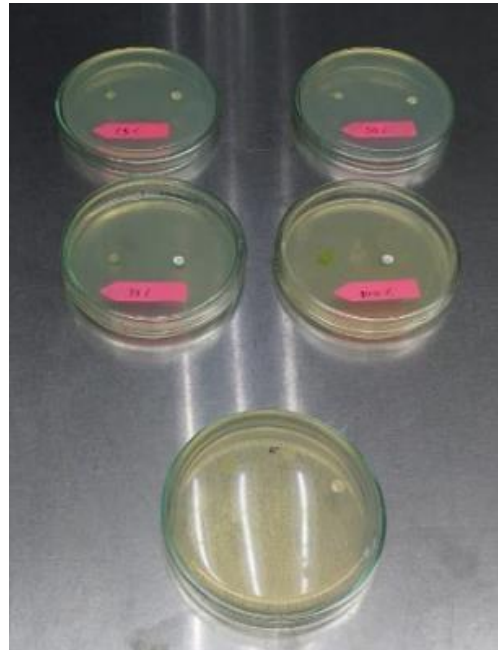
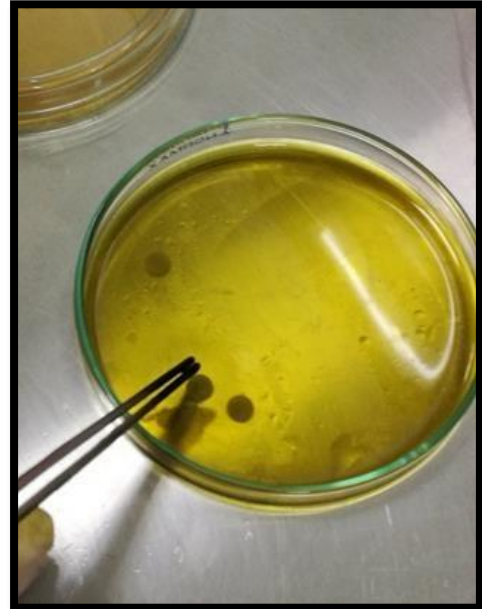
Fotografía 20. Preparación de las concentraciones del extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga)



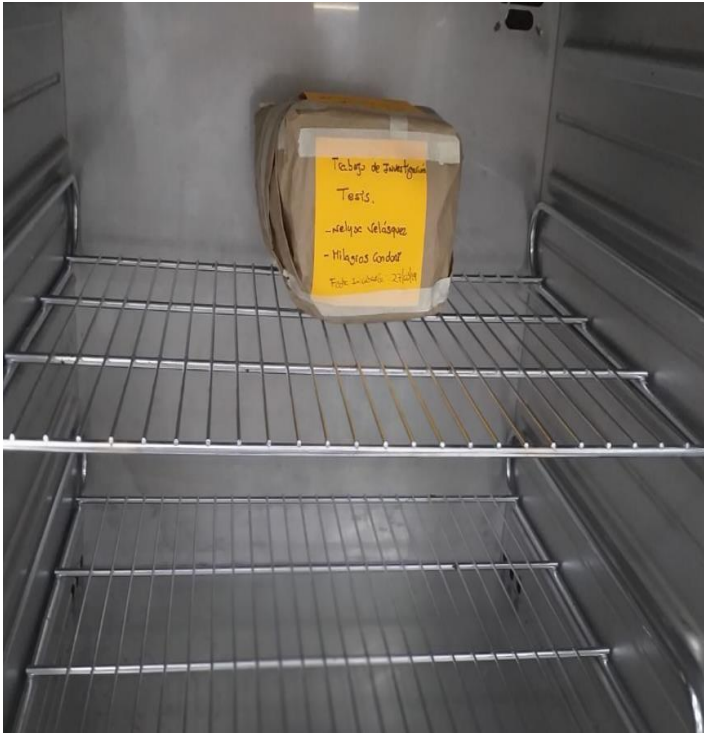
Fotografía 21. Bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922



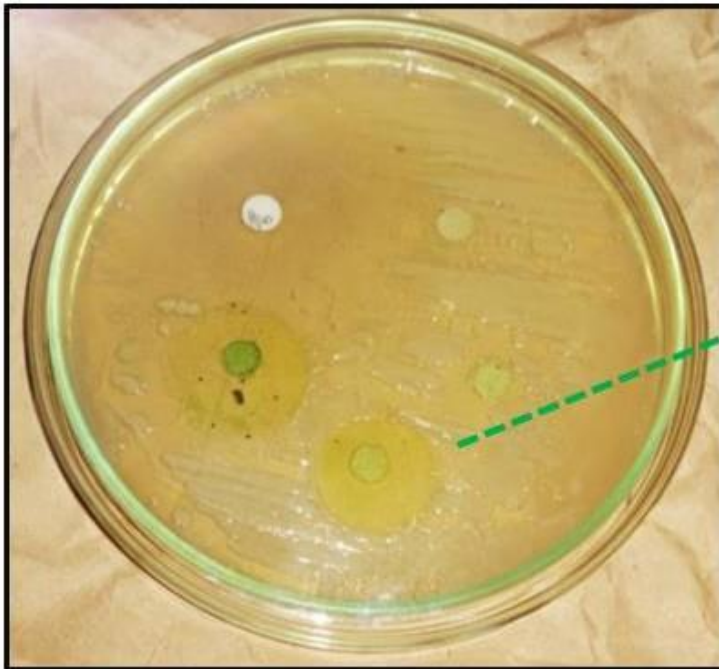
Fotografía 22. Actividad antibacteriana



Fotografía 23. Incubación de las placas a 37 ° C por el período de 24, 48 y 72 Hrs.



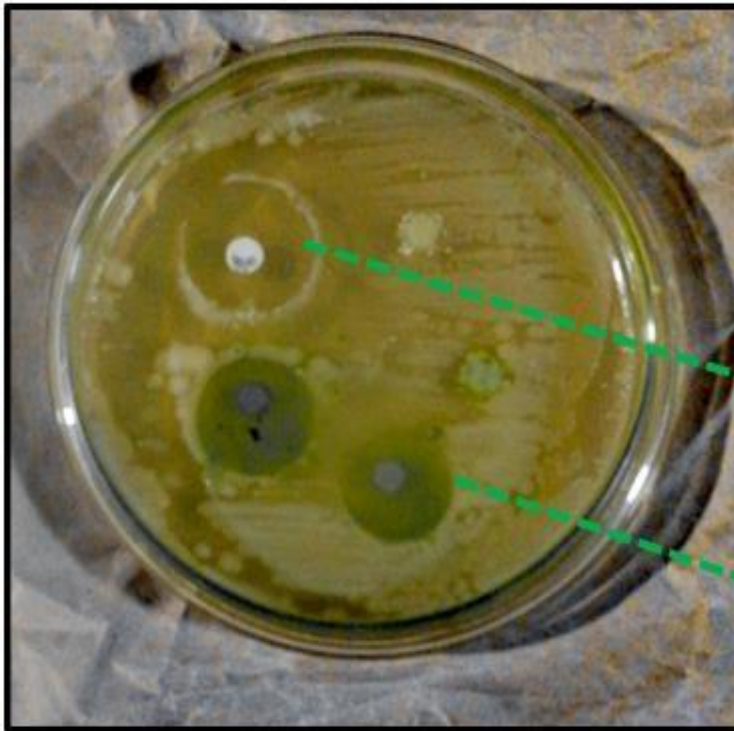
Fotografía 24. Halos de inhibición del extracto etanólico de *Urtica urens* L. (Ortiga negra)



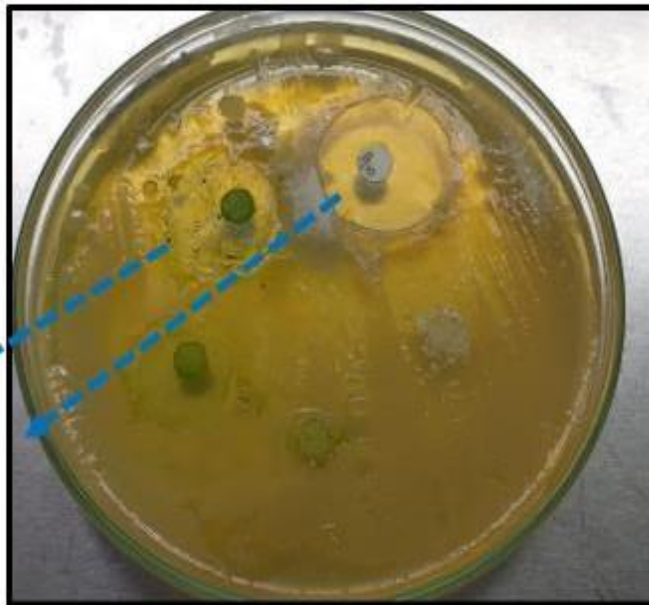
Halo de inhibición  
en concentración  
del 75% 24 Hrs.



Halo de inhibición  
en concentración  
del 75% 48 Hrs.



Halo de inhibición  
en concentración  
del 75% a 72 Hrs.  
Con el control  
positivo.



Halo de inhibición  
en concentración  
del 100 % 24 Hrs  
con el control  
positivo

Halo de inhibición  
en concentración  
del 100 % 48 Hrs



Halo de inhibición  
en concentración  
del 100 % 72 Hrs  
con el control  
positivo



“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA  
DE EXTRACTO ETANÓLICO DE  
LAS HOJAS DE *Urtica urens* L.  
(Ortiganegra), SOBRE *Escherichia*  
*coli*, IN VITRO”

*por* NELYSA VELASQUEZ MILAGROS CONDORI

---

Fecha de entrega: 29-may-2019 12:04p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1137485476

Nombre del archivo: (5.24M)

Total de palabras: 19822

Total de caracteres: 114778



# “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Urtica urens* L. (Ortiga negra), SOBRE *Escherichia coli*, IN VITRO”

## INFORME DE ORIGINALIDAD

**31** %

INDICE DE SIMILITUD

**27** %

FUENTES DE INTERNET

**2** %

PUBLICACIONES

**20** %

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

|          |  |             |
|----------|--|-------------|
| <b>1</b> | <a href="http://repositorio.uigv.edu.pe">repositorio.uigv.edu.pe</a><br>Fuente de Internet               | <b>14</b> % |
| <b>2</b> | Submitted to Universidad Cesar Vallejo<br>Trabajo del estudiante   | <b>4</b> %  |
| <b>3</b> | Submitted to Universidad Catolica De Cuenca<br>Trabajo del estudiante                                    | <b>1</b> %  |
| <b>4</b> | <a href="http://dspace.espech.edu.ec">dspace.espech.edu.ec</a><br>Fuente de Internet                     | <b>1</b> %  |
| <b>5</b> | <a href="http://repositorio.ucv.edu.pe">repositorio.ucv.edu.pe</a><br>Fuente de Internet                 | <b>1</b> %  |
| <b>6</b> | <a href="http://repositorio.espe.edu.ec">repositorio.espe.edu.ec</a><br>Fuente de Internet               | <b>1</b> %  |
| <b>7</b> | <a href="http://repositorio.unapiquitos.edu.pe">repositorio.unapiquitos.edu.pe</a><br>Fuente de Internet | <b>1</b> %  |
| <b>8</b> | Submitted to Universidad de Burgos UBUCEV<br>Trabajo del estudiante                                      | <b>1</b> %  |