

# UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



## FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Schinus molle* L. (Molle) SOBRE  
CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas  
aeruginosa* ATCC 9027**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y  
Bioquímico

### TESISTAS

BACH: Calderón Cóndor, Katty Roció

BACH: Cristóbal Reyna, Estelita S.

### ASESOR:

Mg. Q.F. Epifanio Teófilo Chire Murillo

Lima – Perú  
2019

## **DEDICATORIA**

### ***A Dios.***

Por ayudarme a superar cada obstáculo a lo largo de mi vida universitaria.

### ***A mis familiares.***

A mis progenitores por ser el cimiento, en mi formación integral y apoyo incondicional.

A mis hermanos, por su apoyo y compañía, por el cual siento un gran cariño.

**Katty Rocio**

***A Dios.***

Por ser fuente de fortaleza en todo momento de mi vida universitaria.

***A mis familiares.***

A mis adorados padres Sagrada Reyna Tapiño y Glicerio Cristobal Carhuamaca que siempre fueron inspiración para mi desarrollo personal y academico, además de ser fuente inagotable de consejos y aliento.

**Estelita Cristóbal**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a Dios por ayudarnos a superar cada adversidad que se presentó a lo largo de nuestra vida universitaria.

A nuestra querida alma mater por ser una fuente de conocimiento y sustento en la vida académica.

Finalmente quiero expresar mi gratitud al Mg. Q.F. Epifanio Teófilo Chire Murillo, principal colaborador durante todo este proceso, que con su paciencia y constante apoyo permitió el progreso de la presente investigación.

**Estelita y Katty roció**

## RESUMEN

El objetivo planteado fue determinar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. La planta fue colectada en el distrito de Huasahuasi en la región Junín. El extracto usado en esta investigación fue elaborado por maceración con etanol al 70 %. La actividad antibacteriana se determinó con el método de Kirby-Bauer con pozos de difusión sobre placa de Tripticasa Soya Agar. En el ensayo se usó 15 placas inoculadas con *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y otras 15 con *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Cada placa contenía 3 pozos donde se vertieron las soluciones de extracto (al 60%, 75% y 90%), ciprofloxacino y dimetilsulfóxido para las placas inoculadas con *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y soluciones de extracto (al 20%, 60% y 80%), gentamicina y dimetilsulfóxido para la placa inoculada con *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Luego se incubaron 24 horas. Además se realizó un tamizaje fitoquímico al extracto mediante reacciones de coloración y precipitación. Los resultados del ensayo antibacteriano evidenciaron halos de inhibición de 18.5, 23.8 y 31.6 mm en los pozos con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) a 60, 75 y 90 % frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y 0, 20.8 y 28.8 mm en los pozos con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. a 20%, 60% y 80% frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. El tamizaje evidenció la presencia de quinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, triterpenos, lactonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas y saponinas. Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presentan actividad antibacteriana en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*

*Palabras clave:* *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Schinus molle* L., actividad antibacteriana, extracto hidroalcohólico, ciprofloxacino y gentamicina

## ABSTRACT

The objective was to determine the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Schinus molle* L. (Molle) in strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. The plant was collected in the Huasahuasi district in the Junín region. The extract used in this investigation was prepared by maceration with 70% ethanol. The antibacterial activity was determined with the Kirby-Bauer method with diffusion wells on Tryticasa Soya Agar plate. In the test 15 plates inoculated with *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and another 15 with *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 were used. Each plate contained 3 wells where the extract solutions (60%, 75% and 90%), ciprofloxacin and dimethylsulfoxide were poured for the plates inoculated with *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and extract solutions (20%, 60% and 80%), gentamicin and dimethylsulfoxide for the plate inoculated with *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Then they were incubated 24 hours. In addition, a phytochemical screening of the extract was carried out by means of coloring and precipitation reactions. The results of the antibacterial test showed halos of inhibition of 18.5, 23.8 and 31.6 mm in the wells with hydroalcoholic extract of the leaves of *Schinus molle* L. (Molle) at 60, 75 and 90% against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and 0, 20.8 and 28.8 mm in the wells with hydroalcoholic extract of the leaves of *Schinus molle* L. at 20%, 60% and 80% against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. The screening evidenced the presence of phenolic compounds, flavonoid, tannins, triterpenes, lactones  $\alpha,\beta$ -insaturated and saponins. It was concluded that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Schinus molle* L. (Molle) has antibacterial activity in strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Schinus molle* L., antibacterial activity, hydroalcoholic extract, ciprofloxacin and gentamicin

# INDICE

Dedicatoria

Agradecimiento

Índice de tablas

Índice de figuras

Índice de anexos

Resumen

Abstract

INTRODUCCIÓN .....	1
CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	2
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2 Formulación del problema .....	4
1.2.1. Problema General .....	4
1.2.2. Problemas específicos. ....	4
1.3 Objetivos. ....	4
1.3.1 Objetivo general.....	4
1.3.2 Objetivos específicos .....	4
1.4 Justificación e importancia del estudio. ....	5
1.5 Limitación de la investigación. ....	6
CAPÍTULO II: MARCO TEORICO .....	7
2.1. Antecedentes del estudio.....	7
2.1.1. Nacionales.....	7
2.1.2 Internacionales .....	9
2.2 Bases teóricas .....	12
2.2.1 Descripción general del Molle .....	12
2.2.2 Composición Química .....	13
2.2.3 Distribución.....	15
2.2.4 Identificación taxonómica.....	15
2.2.5 Descripción física de la planta.....	15
2.2.6 Usos tradicionales.....	17
2.2.7 Metabolitos secundarios.....	17
2.2.8 Antibacterianos.....	20

2.2.9	Generalidades de las bacterias Gram positivos y Gram negativos.....	29
2.3	Formulación de hipótesis.....	33
2.3.1	Hipótesis general.....	33
2.3.2	Hipótesis específicas .....	33
2.4	Variables.....	34
2.4.1	Tabla de operacionalización de variables.....	34
2.5	Definición de términos básicos. ....	34
<b>CAPITULO III: MÉTODO .....</b>		<b>36</b>
3.1	Tipo de estudio .....	36
3.2	Diseño a utilizar .....	36
3.3	Población.....	37
3.4	Muestra .....	36
3.5	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	42
3.6	Procesamiento de Datos .....	43
<b>CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>		<b>45</b>
4.1	Presentación de resultados .....	45
4.1.1	Resultado de la prueba de Solubilidad .....	45
4.1.2	Resultados del tamizaje fitoquímico .....	45
4.1.3	Los resultados en la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle).....	47
4.1.4	Pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas .....	48
4.2	Contrastación de hipótesis .....	50
4.3	Discusión de resultados.....	57
<b>CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>		<b>60</b>
5.1	CONCLUSIONES.....	60
5.2	RECOMENDACIONES.....	60
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>		<b>61</b>
<b>ANEXO 1: Matriz de consistencia .....</b>		<b>70</b>
<b>ANEXO 2: Certificado de análisis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....</b>		<b>72</b>
<b>ANEXO 3: Certificado de análisis de <i>Staphylococcus aureus</i>.....</b>		<b>72</b>
<b>ANEXO 4: Constancia de identificación taxonómica .....</b>		<b>73</b>
<b>ANEXO 5: Materia prima .....</b>		<b>75</b>
<b>ANEXO 6: Obtención del extracto seco.....</b>		<b>76</b>
<b>ANEXO 7: Screening fitoquímico.....</b>		<b>77</b>
<b>ANEXO 9: Análisis microbiológico.....</b>		<b>79</b>



<b>ANEXO 10 Resultados .....</b>	<b>82</b>
<b>ANEXO 11: Fichas de validación del instrumento de la recolección de datos .....</b>	<b>88</b>

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de terpenos .....	18
Tabla 2. Clasificación de penicilinas.....	22
Tabla 3. Clasificación de cefalosporinas .....	23
Tabla 4. Clasificación de quinolonas .....	26
Tabla 5. Operacionalización de variables.....	34
Tabla 6. Tamizaje fitoquímico .....	38
Tabla 7. Materiales usados en el laboratorio .....	43
Tabla 8. Equipos usados en el laboratorio .....	44
Tabla 9. Resultados del ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle</i> .....	45
Tabla 10. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle</i> .....	46
Tabla 11. Resultado de Halos de Inhibición del extracto hidroalcohólico <i>Schinus molle</i> frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	47
Tabla 12 Resultado de Halos de Inhibición del extracto hidroalcohólico <i>Schinus molle</i> frente a la cepa de <i>Pseudomonas auriginosa</i> .....	47
Tabla 13. Prueba de normalidad de los resultados de ensayo antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	48
Tabla 14. Prueba de homogeneidad de varianzas de los resultados de ensayo antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	49
Tabla 15. Prueba de normalidad de los resultados de ensayo antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle</i> frente a <i>Pseudomonas auriginosa</i> .....	49
Tabla 16. Prueba de homogeneidad de varianzas de los resultados de ensayo antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	50
Tabla 17. Comparaciones multiples mediante el test de Dunnet para determinar la actividad antimicrobiana del extracto frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	52

Tabla 18. Comparaciones múltiples mediante el test de Dunnet para determinar la actividad antimicrobiana del extracto frente a *Staphylococcus aureus* ..... 53

Tabla 19. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* comparado con Ciprofloxacino frente a la cepa de *Pseudomona auriginosa*... 55

Tabla 20. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* comparado con Ciprofloxacino frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*. ... 56

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de elemol, $\beta$ -cubebeno, $\delta$ -cadineno y $\gamma$ -eudesmol .....	13
Figura 2. 3- <i>epi</i> -isomasticadienolálico y ácido isomasticadienonálico.....	13
Figura 3. Estructura química de chamaejasmin.....	14
Figura 4. Estructura química de isoquercitrina 6''-O- <i>p</i> -hidroxibenzoato y 2''-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-hiperina 6''-O-galato.....	14
Figura 5. <i>Schinus molle</i> .....	16
Figura 6. Estructura química del isopreno .....	17
Figura 7. El núcleo de los flavonoides, $\gamma$ -benzopirona.....	19
Figura 8. Clasificación y ejemplos de flavonoides. (43) .....	20
Figura 9. Mecanismo de acción de los $\beta$ -lactámicos. ....	21
Figura 10. Estructura química del ácido 6-aminopenicilánico, núcleo de las penicilinas .....	21
Figura 11. Estructura química del ácido 7-aminocefalosporánico.....	22
Figura 12. Estructura química general de los monobactámicos .....	23
Figura 13. Estructura química general de los carbapenems .....	24
Figura 14. Estructura química de una fluorquinolona. ....	24
Figura 15. Mecanismo de acción de las quinolonas .....	25
Figura 16. Mecanismo de acción de los aminoglucósidos.....	27
Figura 17. Mecanismo de acción de los macrólidos .....	28
Figura 18. Medidas de halo de inhibición frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	52
Figura 19. Medidas de halo de inhibición frente a cepas de <i>Pseudomona auriginosa</i> .....	53
Figura 20. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico <i>Schinus molle</i> comparado con Gentamicina frente a la cepa de <i>Pseudomona auriginosa</i> .....	55

Figura 21. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* comparado con Ciprofloxacino frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* .... 56

## INTRODUCCIÓN

Las plantas han conformado una parte importante en la cultura de diversas partes del mundo. La utilidad para curar diferentes patologías constituye un conocimiento empírico que se transmite de manera oral de una generación a otra.

El Perú posee una gran diversidad de plantas medicinales debido a sus diferentes áreas geográficas (costa, sierra, selva), donde influyen la altitud, suelo y humedad. En la actualidad existen plantas medicinales que contienen metabolitos aun por investigar y conocer el estudio de sus efectos farmacológicos, que son de gran importancia para la población.

El molle es una planta de amplio uso en la medicina tradicional no solo en el Perú, sino también en el resto de Latinoamérica. A la corteza se le han atribuido propiedades tónicas, antiespasmódicas, cicatrizantes y a la resina para aliviar las caries. Los frutos frescos se toman en infusión contra la retención de orina. Las hojas hervidas poseen efecto analgésico, cicatrizante y antiinflamatorio de uso externo; las hojas secas expuestas al sol se usan como cataplasma para aliviar el reumatismo y la ciática.

La presente investigación tiene la necesidad de dar una alternativa natural en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, disminuyendo la resistencia bacteriana que actualmente se relaciona a los antibióticos. El objetivo principal es comprobar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

## CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 Descripción de la realidad problemática.

Los microorganismos, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* son bacterias con la capacidad de generar una infección en el ser humano. (1) Los fármacos de primera línea que son usados para tratar las infecciones producidas por estos microorganismos son cada vez menos eficaces, ya que estos han desarrollado mecanismos para resistir el ataque de algunos antibióticos. (2) La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a la bacteria, *Staphylococcus aureus*, como prioridad elevada en la “Lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos”. (3) La bacteriemia es una infección causada por bacterias oportunistas que logran ingresar al torrente sanguíneo. En los países de altos recursos la incidencia de bacteriemia por *Staphylococcus aureus* oscila entre el 10 – 30 por 100 000 personas al año. (4) La OMS afirma que existen *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en todos los continentes y que en la mayoría de países la incidencia es del 20% pero en otros llega hasta el 80%. (5) La mortalidad en niños con infecciones por *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina es de 14%. (6)

La incidencia de bacteriemia por *Staphylococcus aureus* en pacientes con VIH en Estados Unidos entre los años 2000-2004 es de 1960, de 17 000 pacientes con hemodiálisis en Irlanda entre los años 1998-2009, de 630 niños menores de 5 años en Gana y 33.9 Suizos en los años 2003-2004 por cada 100 000 por año. (7)

El *Staphylococcus aureus* es la segunda bacteria con mayor prevalencia de sepsis neonatal en el Perú. (8) Es considerada como uno de los principales patógenos aislados en hemocultivos y tracto respiratorio inferior en hospitales de seguro social en el Perú. (9) La infección de esta bacteria puede transformarse en sepsis, este a su vez puede acabar con la vida del paciente que la padece.

*Pseudomonas aeruginosa* presenta un fenómeno de resistencia a los antibióticos muy particular ya que muestra prácticamente todos los

mecanismos enzimáticos y mutacionales conocidos en la resistencia bacteriana. (10) Desde el siglo pasado *Pseudomonas aeruginosa* se convirtió en el patógeno oportunista más importante, debido a su resistencia frente a los antibióticos y desinfectantes usados para eliminar a esta bacteria. (11)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) cataloga a la bacteria, *Pseudomonas aeruginosa*, como una bacteria de prioridad crítica en la “Lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos”.

(3) Un estudio de prevalencia en un Hospital del Perú evidenció que las infecciones más comunes son aquellas producidas por *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. (11) *Pseudomonas aeruginosa* es responsable del 10 a 15 % de las infecciones nosocomiales en todo el mundo. (12)

El 10% de pacientes quemados sufren septicemias. (13) El 33.9 % de pacientes que sufren sepsis por *Pseudomonas aeruginosa* llegan a morir. (14) En el país la sepsis por *Pseudomonas aeruginosa* es una de las principales causas de muerte. (15)

Por lo mencionado anteriormente, las infecciones bacterianas producidas por *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, son consideradas un verdadero problema sanitario tanto en hospitales como en la comunidad, ya que existe una alta incidencia de bacterias resistentes a la terapia farmacológica convencional y por esto la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera importante la investigación de nuevos antibióticos para tratar estas enfermedades. Esta problemática nos motiva a demostrar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Shinus molle* L (Molle), sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Buscar alternativas para la industria farmacéutica en la elaboración de variedades en productos farmacéuticos de origen natural como: (jarabes, cremas, pomadas, capsulas) y poder disminuir los problemas de infección a un bajo costo y con menos reacciones adversas para la población.



## 1.2 Formulación del problema

### 1.2.1. Problema General

¿Presentará actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027?

### 1.2.2. Problemas específicos.

- 1) ¿Qué tipos de metabolitos secundarios presentará el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle)?
- 2) ¿Cuál será la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) que posee actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027?
- 3) ¿Cómo será la actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) comparado con ciprofloxacino y gentamicina respectivamente?

## 1.3 Objetivos.

### 1.3.1 Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

### 1.3.2 Objetivos específicos

- 1) Identificar qué tipos de metabolitos secundarios presenta el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle).

- 2) Hallar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) que posee actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.
- 3) Comparar la actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) frente a ciprofloxacino y gentamicina respectivamente.

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

El uso de las plantas como medicamentos naturales, son hechos sumamente antiguos, casi tanto como la historia escrita del mismo hombre, ya que algunos de los escritos más antiguos de China, Egipto y Sumeria son sobre plantas medicinales. (16) La medicina tradicional herbaria es una herramienta que proporciona salud a una parte importante en el planeta y también es fuente de conocimiento para la búsqueda de nuevos fármacos. (17)

*Schinus molle* L. (Molle) es una de las especies más resaltantes en la medicina tradicional por sus numerosos usos tradicionales para tratar las heridas, malaria, sarampión, viruela, dolor corporal, bronquitis, reumatismo, diarrea, dolor de cabeza y fiebre. (18–22). Validar el conocimiento tradicional es un aporte al conocimiento científico y una contribución a la población que lo consume de manera tradicional. Los tratamientos convencionales para tratar las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, no son accesibles para una porción significativa en el mundo, por esta razón la medicina tradicional herbaria es muy practicada. En países en vías de desarrollo entre el 60 - 90%, usan la medicina tradicional para tratar necesidades de atención primaria y un 80% de países Africanos las usan para satisfacer necesidades sanitarias. (23) Pero la medicina tradicional es un conocimiento empírico que requiere de validación con rigor científico (24); por ello, se evidencia la importancia de esta investigación.

Validar el uso tradicional del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) podría inspirar a futuras investigaciones a identificar nuevos compuestos con actividades antibacterianas.

### **1.5 Limitación de la investigación.**

El ensayo para determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 mediante la técnica de Kirby-Bauer con pozos de difusión que puede no ser extrapolable a un modelo *in vivo*, ya que existen variables que no se consideran como el metabolismo y la digestión.

Para la recolección de la muestra, no estuvo al alcance del investigador, se recolectaron de la Provincia de Junín en el mes de agosto. Para proceso de experimentación se tuvo acceso al laboratorio de farmacognosia, química instrumental, de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la universidad " Inca Garcilaso de la Vega", estuvo al alcance del investigador.

## CAPÍTULO II: MARCO TEORICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

#### 2.1.1. Nacionales

**1. Trejo C. (2015), En su investigación “Efecto antidiarreico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle)”.**

Se determinó la actividad antidiarreica del extracto elaborado con una mezcla de etanol y agua de las hojas de la especie botánica, *Schinus molle*. Para esto se utilizaron 25 cobayos con un peso entre 500 y 600 g separados en 5 grupos: Agua destilada (blanco), loperamida (estándar), extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* a 100, 200 y 300 mg/kg. Los resultados indican que todas las concentraciones del extracto hidroalcohólico poseen parecido efecto antidiarreico comparado al estándar. Por otro lado los metabolitos hallados fueron derivados fenólicos, flavonoides, taninos, esteroides y triterpenos; además de resinas, catequinas, azúcares reductores, saponinas y cumarinas. En definitiva la dosis optima del extracto hidroalcohólico de las hojas *Schinus molle* para obtener efecto antidiarreico es de 300 mg/Kg. (25)

**2. Gómez E (2017). En su tesis titulada “Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto alcohólico de *Schinus molle* (Molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175”.**

Determinó Evaluar el efecto antibacteriano in vitro de diez concentraciones del extracto alcohólico de *Schinus molle* (Molle) sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Para ello se utilizaron diez concentraciones del extracto (2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25 mg/mL). Un control positivo, gluconato de clorhexidina al 0.12% (Oralgene) y un control negativo solución salina fisiológica estéril, el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Schinus molle* (Molle) se usó el método de difusión en discos. Que consiste en sembrar por dispersión en superficie con hisopo estéril el inóculo bacteriano de *Streptococcus mutans* sobre la

superficie de placas. Los resultados indicaron que se presentó a la concentración de 22.5 mg/mL y 25 mg/mL, obteniéndose halos promedio de inhibición de 10.4 mm y 12.5 mm respectivamente. El control presento un halo de inhibición promedio de 14 mm. La autora concluyó que el extracto alcohólico de *Schinus molle* tiene efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* en todas las concentraciones evaluadas. (26)

**3. Clemente R, et al. (2017). En su investigación “Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* L. “Molle”. Comprobaron el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* L. “Molle”. Para ello analizaron la actividad antimicrobiana con el método de difusión en agar, para luego medir los halos producidos con un vernier. Como resultado se evidenciaron, primero, que el extracto etanólico a dosis de 500 y 1000 mg/mL, demostró tener efecto antimicrobiano sobre *S. mutans* “ATCC 25175”. Con respecto al análisis de metabolitos, se hallaron: flavonoides, alcaloides, carbohidratos, esteroides y/o triterpenos, azúcar reductores y derivados fenólicos. Por lo cual se concluye que el extracto etanólico de *Schinus molle* inhibe el crecimiento de *Streptococcus mutans* “ATCC 25175”.(27)**

**4. Arias G. (2000) En una investigación titulada “Determinación químico bromatológica y actividad antimicrobiana de *Spondias mombim* L. (Ubo)”. Determinaron el efecto antimicrobiano de *Spondias mombim* frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Candida albicans*. El fruto de *Spondias mombim* fue colectado en Pucallpa. El método usado para determinar el efecto antimicrobiano fue Kirby-Bauer con discos de difusión con el extracto acuoso de la corteza a 100 mg/mL. Entre los resultados más relevantes se encuentra el efecto antibacteriano de la corteza *Spondias mombim* frente *Staphylococcus aureus* con un halo de inhibición entre 9-13 mm. La autora concluyó que *Spondias mombim* tiene efecto antimicrobiano**

frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Candida albicans*.  
(28)

5. Herrera N, et al. (2013) En su tesis titulada “Efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas *Schinus molle* L. “Molle” sobre la viabilidad de *Streptococcus*  $\beta$ - hemolítico *in vitro*”. Determinaron el efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de *Schinus molle* L. “Molle” *in vitro* sobre el crecimiento de *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico. Para esto se utilizaron hojas de *Schinus molle* y cultivos de *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico. Primero se trabajó a dosis de 250, 500, 750 y 1000 mg/mL del extracto hidroalcohólico, comparadas ante la penicilina. Para analizar el efecto antimicrobiano se utilizó la técnica de Kirby Bauer modificado. Los resultados dejaron en evidencia que las dosis utilizadas alteran la replicación de la bacteria. Debido a esto se concluye que todas las concentraciones que se utilizaron del extracto hidroalcohólico de hojas de Molle presentan efecto antibacteriano contra *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico. (29)

### 2.1.2 Internacionales

1. Cruz A, et al. (2010) En su investigación “Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana cámara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*”. Determinaron la propiedad antibacteriana del extracto de cuatro especies vegetales. Debido a esto el ensayo experimental se realizó en dos etapas, la primera en la elaboración del extracto etanólico a partir de las hojas secas de las plantas mencionadas. La segunda con la aplicación de las pruebas microbiológicas para analizar la actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, además se utilizaron fármacos estándar como cloranfenicol y gentamicina. Los resultados exhibieron mejor actividad antibacteriana de *B. pilosa* y *L. cámara*, *S. molle* mientras que *S. Marianum* manifestó moderado efecto para evitar la

replicación de *S. aureus*. Esta investigación deja en evidencia que las especies estudiadas alteran el crecimiento de *S. aureus*. (30)

**2. Gehrke I et al (2013). En un artículo titulado “Antimicrobial activity of *Schinus lentiscifolius* (Anacardiaceae)”.** *Schinus lentiscifolius* es una planta nativa de Rio Grande (sur de Brasil) y usado tradicionalmente como como antiséptico y antimicrobiano para el tratamiento de muchos problemas de salud diferentes, así como para tratar leucorrea y para ayudar en la curación de úlceras y heridas. Aunque es una planta ampliamente utilizada por la población, no hay estudios que prueben este uso popular. Material y métodos El extracto acuoso crudo, el extracto de metanol neutro crudo, las fracciones preparadas a partir de este extracto (n-hexano, acetato de etilo y n-butanol), los compuestos puros aislados de estas fracciones y los derivados se investigaron in vitro para detectar actividades antimicrobianas contra cinco bacterias Gram positivas: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes*, tres bacterias Gram negativas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Shigella sonnei*, y cuatro levaduras, *Candida albicans*, *Candida*, *Candida albicans*, *Candida al*, *Candida*, *Candida* y *Candida cerevisiae*. El ácido morónico compuesto aislado, que es el más activo, se probó contra una variedad de otras bacterias, como dos bacterias Gram positivas, a saber, *Bacillus cereus*, *Enterococcus* spp, y seis bacterias Gram negativas, a saber, *Burkholderia cepacia*, *Providencia stuartii*, *Morganella. morganii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* y *Proteus mirabilis*. Resultados El extracto acuoso de hoja (decocción) de *Schinus lentiscifolius* mostró un amplio espectro de actividad antibacteriana, que oscila entre 125 y 250 µg/mL (MIC) contra las bacterias y hongos analizados. El extracto de n-hexano, a pesar de ser muy poco activo contra las bacterias, mostró una excelente actividad antifúngica, especialmente contra *Candida albicans*, *Candida tropicalis* y *Cryptococcus neoformans* con un MIC de 25, 15.5 y 15.5 µg/mL respectivamente. De la fracción de acetato (la más activa contra las

bacterias), se aislaron los compuestos 1-6: nonadecanol (1), ácido morónico (2), éster metílico del ácido gálico (3), ácido gálico (4), quercetina (5) y quercitrina. (6) La concentración inhibitoria mínima (MIC) de ácido morónico entre 1.5 y 3 µg/mL contra la mayoría de las bacterias ensayadas. La actividad antimicrobiana y algunos componentes de *Schinus lentiscifolius* se informan por primera vez. Los resultados del presente estudio proporcionan una base científica para el uso popular de *Schinus lentiscifolius* para varios problemas de salud diferentes. (31)

**3. Rhouma A et al (2009) En una investigación titulada “Antimicrobial activities of leaf extracts of *Pistacia* and *Schinus* species against some plant pathogenic fungi and bacteria”.** Los extractos de hojas de *Pistacia vera*, *Pistacia atlantica*, *Schinus terebenthifolius* y *Schinus molle* fueron investigados por su efecto antimicrobiano contra *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*. Los extractos se prepararon a partir de hojas secas y en polvo con solventes (hexano, etanol, metanol y agua) con diferentes grados de polaridad. Los extractos acuosos y metanólicos exhibieron un alto nivel de actividad antifúngica y antifúngica. Los extractos de hojas de *P. atlantica* mostraron un alto nivel de actividad antibacteriana. Sin embargo, los extractos de hojas de *Schinus terebenthifolius* y *Schinus molle* mostraron las mejores actividades antifúngicas. El contenido total de polifenoles de los extractos se correlacionó positivamente con el diámetro de las zonas de inhibición, lo que sugiere su potencial actividad antimicrobiana. Un examen fitoquímico preliminar reveló la presencia de taninos, flavonoides y alcaloides. Estos hallazgos sugieren que las hojas de *Pistacia* y *Schinus spp.* son fuentes potenciales de compuestos antimicrobianos. (32)

**4. Degáspari C et al (2009). En una investigación titulada “Atividade antimicrobiana de *Schinus terebenthifolius* Raddi”.** Esta investigación analizó la actividad antimicrobiana de extractos acuosos y alcohólicos obtenidos de frutos de *Schinus terebenthifolius* o aroeira-



vermelha, directamente relacionados con la cantidad de compuestos fenólicos existentes en estos extractos. Las pruebas mostraron que el extracto alcohólico presentaba un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, y el extracto acuoso no presentaba un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los microorganismos analizados. El extracto alcohólico se mostró con una cantidad significativa de la apvinaína flavona, además del ácido elágico y el ácido siríngico. (33)

5. **El-Massry K et al (2009) En una investigación titulada “Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt”.** El aceite esencial, el extracto de diclorometano y el extracto de etanol se prepararon a partir de hojas frescas de *Schinus terebinthifolius* cultivadas en Egipto. El aceite esencial se analizó por cromatografía de gases y cromatografía de gases/espectrometría de masas. El aceite esencial comprendía 4,97% de monoterpenos, 56,96% de sesquiterpenos, 34,37% de monoterpenos oxigenados y 3,32% de sesquiterpenos oxigenados. Los compuestos principales en el aceite esencial fueron *cis*- $\beta$ -terpineol (área pico de GC%, 17.87%), (E) - cariofileno (17.56%),  $\beta$ -cedreno (9.76%) y citronelal (7.03%). Los principales compuestos fenólicos identificados en el extracto de etanol fueron ácido cafeico (extracto de 5.07 mg / 100 mg), ácido cumárico (1.64 mg) y ácido siríngico (1.59 mg). La actividad antioxidante del extracto de etanol, que fue comparable con la de la butilhidroquinona, fue superior a la del aceite esencial y el extracto de diclorometano en los ensayos de 2,2-difenilpicrilhidrazilo y  $\beta$ -caroteno/blanqueador. El extracto de diclorometano exhibió la mayor actividad antimicrobiana contra 6 cepas, seguido del extracto de etanol y el aceite esencial. (34)

## 2.2 Bases teóricas

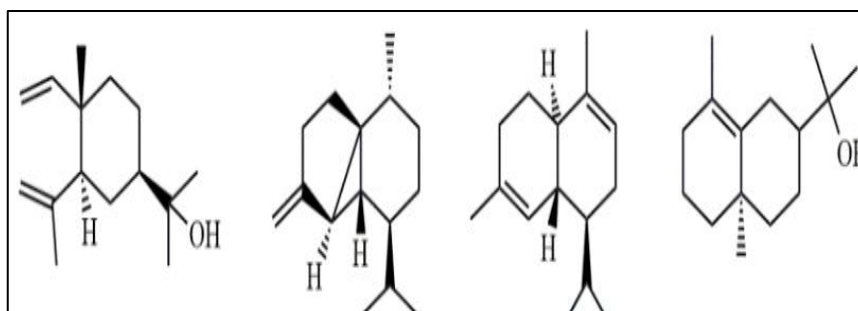
### 2.2.1 Descripción general de *Schinus molle* L. (Molle)

*Schinus molle* L. (Molle) es un árbol nativo del Perú. De hojas perennes pero con un follaje denso. Es una especie que crece en la costa y sierra

pero es más común en el norte del Perú a 2 300 msnm y a 3 000 en la zona centro del Perú. (35)

### 2.2.2 Composición Química

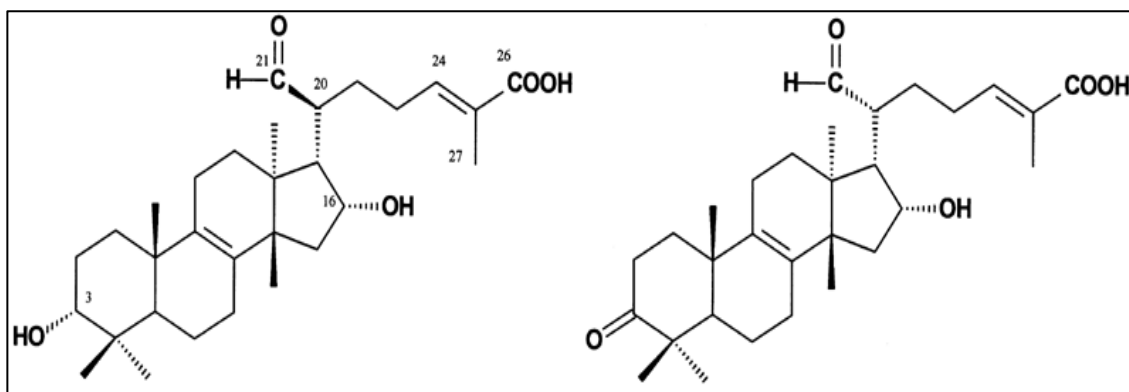
Las hojas de *Schinus molle* presentan principalmente sesquiterpenos como elemol,  $\beta$ -cubebeno,  $\delta$ -cadineno,  $\gamma$ -eudesmol,  $\beta$ -eudesmol, sabineno, triciclono, acetato de bornilo, limoneno,  $\alpha$ -felandreno, camfeno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -mirceno y cariofileno. (36)



**Figura 1.** Estructura química de elemol,  $\beta$ -cubebeno,  $\delta$ -cadineno y  $\gamma$ -eudesmol

Fuente: Silva-Junios EF, Aquino PG, Santos-Junior PF, Nascimento IJ, Gomes EA, Silva AL, et al. Phytochemical compounds and pharmacological properties from *Schinus molle* Linnaeus and *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). J Chem Pharm Res [Internet]. 2015;7(12):389–93

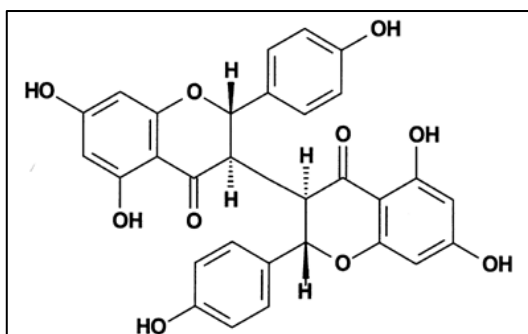
El fruto de esta especie presenta ácido 3-*epi*-isomasticadienolálico y ácido isomasticadienonálico. (37)



**Figura 2.** 3-*epi*-isomasticadienolálico y ácido isomasticadienonálico

Fuente: Yueqi Z, Recio MC, Giner RM, Cérda-Nicolas M, Rios J. Isolation of Two Triterpenoids and a Biflavanone with Anti-Inflammatory Activity from *Schinus molle* Fruits. Planta Med. 2003;69(10):893–8.

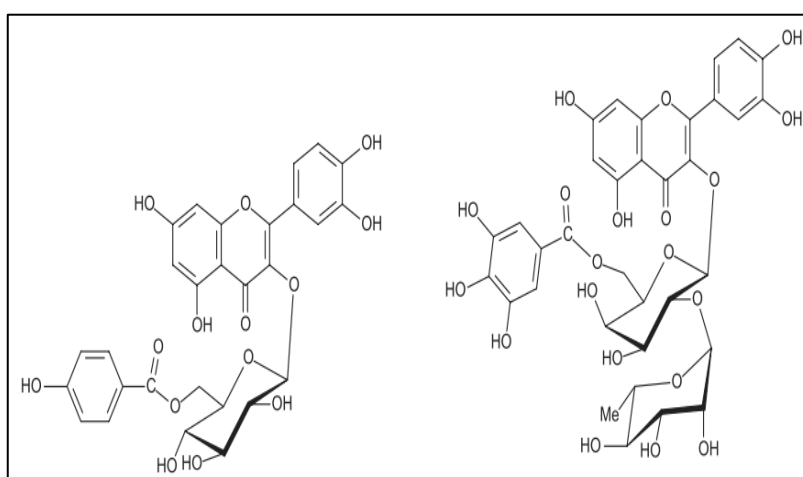
El fruto de *Schinus molle* también presenta chamaejasmin, una biflavanona antiinflamatoria. (37)



**Figura 3.** Estructura química de chamaejasmin

Fuente: Yueqi Z, Recio MC, Giner RM, Cérda-Nicolas M, Rios J. Isolation of Two Triterpenoids and a Biflavanone with Anti-Inflammatory Activity from *Schinus molle* Fruits. *Planta Med.* 2003;69(10):893–8.

Las hojas presentan una amplia variedad de compuestos fenólicos como ácido gálico, metilgalato y ácido clorogénico pero principalmente flavonoides como 2'' $\alpha$ -L-ramnopiranosil-hiperina, quercetin 3-O- $\beta$ -D-neohesperidosido, miquelianina, quercetin 3-O- $\beta$ -D-galacturonopiranosido, isoquercitrina, hiperina, isoquercitrina 6''-galate, hiperina 6''-O-galato, catequina, isoquercitrina 6''-O-*p*-hidroxibenzoato y 2''-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-hiperina 6''-O-galato. (38)



**Figura 4.** Estructura química de isoquercitrina 6''-O-*p*-hidroxibenzoato y 2''-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-hiperina 6''-O-galato

Fuente: Marzouk MS, Moharram FA, Haggag EG, Ibrahim MT, Badary OA. Antioxidant

flavonol glycosides from *Schinus molle*. Phyther Res [Internet]. 2006;20(3):200–5.

### 2.2.3 Distribución

La especie *Schinus molle* L. (Molle) es nativa del Perú e introducida a algunos países de Latinoamérica. Esta especie está ampliamente difundida en el Perú. Ésta especie puede crecer en la costa Peruana pero prefiere el norte del Perú a 2 300 y a 3 000 m de altura en la zona centro del Perú. (35) Ésta especie también crece en el sur de Chile, norte de Ecuador, Colombia, Paraguay, al sur de Uruguay y Brasil. (35)

### 2.2.4 Identificación taxonómica

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

SUB CLASE: Rosidae

ORDEN: Sapindales

FAMILIA: *Anacardiaceae*

GÉNERO: *Schinus*

ESPECIE: *Schinus molle* L.

NOMBRE VULGAR: Molle

### 2.2.5 Descripción física de la planta

*Schinus molle* L. (Molle) es originario de Perú; que su nombre común es masilla peruana. El árbol crece rápidamente; de forma delicuescente; raramente mucho más de 10 m alto; de hoja perenne, con hojas pinnadas alternas, las ramillas y las hojas a menudo colgantes; las pequeñas flores amarillas abundantes en racimos terminales; de dos sexos; los árboles femeninos producen racimos de rojo púrpura con drupas de unos 5 mm. de diámetro. Fue el olor y el sabor de estas frutas lo que sugirió el nombre común de árbol de pimienta.

El pimentero no tiene el ciclo reproductivo típico de las plantas de regiones templadas. Produce flores continuamente desde la primavera hasta el otoño.  
(35)



**Figura 5.** *Schinus molle*

Fuente: Luminescent. Schinus-molle-botanical [Internet]. Luminescent. 2018 [citado 20 de septiembre de 2019]. p. 1. Disponible en: [https://www.luminescents.net/?attachment\\_id=15555](https://www.luminescents.net/?attachment_id=15555)

## 2.2.6 Usos tradicionales

En Etiopía las semillas son usadas para tratar la malaria. (18)

En Bolivia el cataplasma de las hojas y los baños con las ramas son usados para tratar el sarampión, viruela, heridas, dolor corporal. (19)

En Lima la decocción de las hojas se usa para tratar la bronquitis y dolores musculares. (39) Pero en otras partes del Perú las hojas son usadas como antirreumático, cicatrizante, en la limpieza de los dientes y digestivo (20)

En México la infusión de las partes aéreas son usados para tratar la diarrea. (21)

En Sudáfrica el emplasto de las hojas son usadas para el tratamiento de la fiebre y dolor de cabeza. (22)

## 2.2.7 Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos no indispensables para el desarrollo de la planta, derivados del metabolito primario, anteriormente llamado desecho. (40)

### Tipos de metabolitos secundarios

#### a. Terpenos

Son metabolitos secundarios que derivan principalmente de la ruta biogénica del ácido mevalónico. Estos tienen como característica uniones cabeza-cola entre isoprenos. (41)

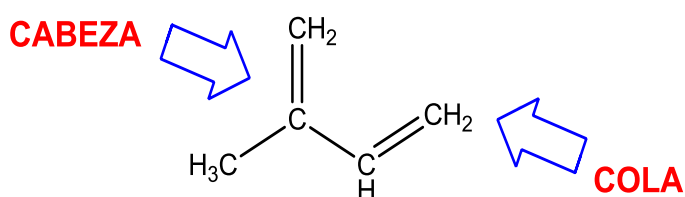


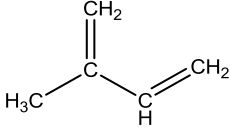
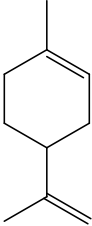
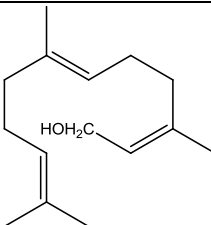
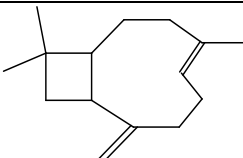
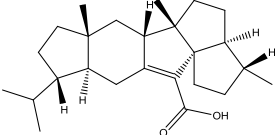
Figura 6. Estructura química del isopreno

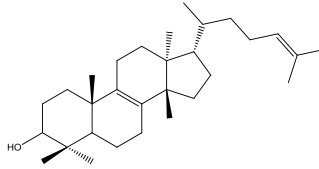
Fuente: Elaboración propia

## Clasificación de terpenos

Los terpenos están constituidos por unidades isoprénicas, de cinco carbonos.

Tabla 1. Clasificación de terpenos

Tipo de terpeno	N° de carbonos	Ejemplo estructural
Hemiterpéno	5	 Isopreno
Monoterpeno	10	 Limoneno
Sesquiterpeno	15	 Farnesol
Diterpeno	20	 Cariofileno
Sesterterpeno	25	 Ácido retigeránico

Triterpenos	30	 <p data-bbox="901 369 1029 414">Tirucalol</p>
-------------	----	--

Fuente: Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales.

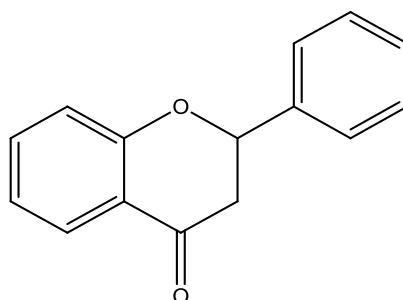
3<sup>a</sup> ed. Lima: Pontificia universidad catolica del Perú; 2016. 287 p.

## b. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos tienen un origen biosintético del ácido shikímico y en algunas ocasiones del acetato. Estos precursores pueden dar origen diferentes tipos de metabolitos secundarios como Ácidos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides. (42)

### Flavonoides

Entre los metabolitos secundarios más distribuidos en el reino vegetal, se encuentran los flavonoides. Estos metabolitos tienen un núcleo  $\gamma$ -benzopirona. (40)



**Figura 7.** El núcleo de los flavonoides,  $\gamma$ -benzopirona

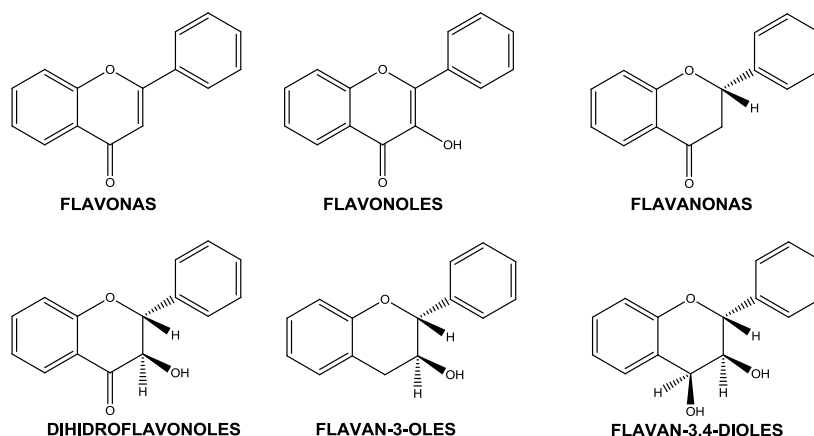
Fuente: Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales.

3<sup>a</sup> ed. Lima: Pontificia universidad catolica del Perú; 2016. 287 p.

### Clasificación de flavonoides

La clasificación de los flavonoides se grafica en la siguiente figura.





**Figura 8.** Clasificación y ejemplos de flavonoides. (43)

Fuente: Bruneton J. Farmacognosia y fitoquímica de plantas medicinales. 2ª ed. Mexico: Acribia; 2001. 1120 p.

## 2.2.8 Antibacterianos

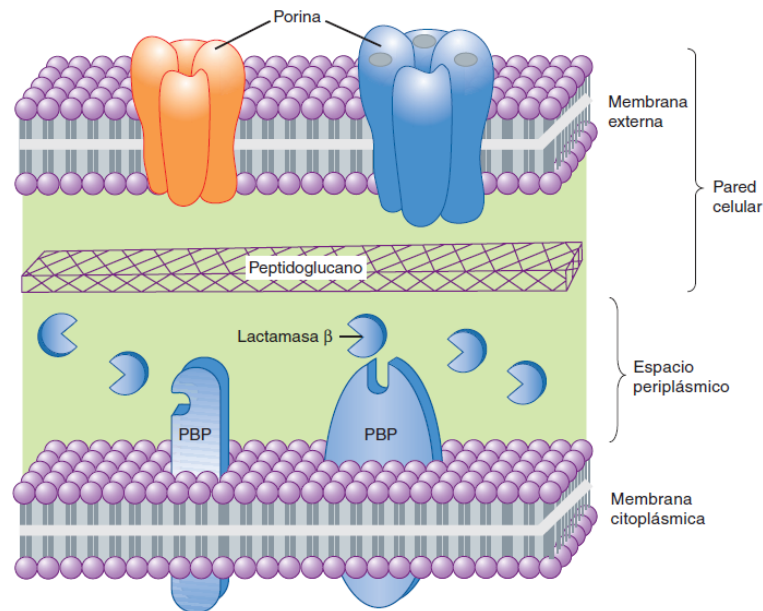
Algunas sustancias de diverso origen pueden tener la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de una bacteria. Si estas sustancias no son tóxicas a las concentraciones bioactivas se denominan drogas antibacterianas. (2)

### 2.2.8.1 Antibacterianos betalactámicos:

Los antibióticos betalactámicos comparten una estructura y mecanismos de acción comunes, inhibición de la síntesis de la pared del péptidoglucano de la célula bacteriana. (44)

- **Mecanismo de Acción:**

Inhibición de la síntesis del péptidoglucano. El péptidoglucano es un componente heteropolimero de la pared celular que proporciona una estabilidad mecánica rígida. Los antibióticos betalactámicos inhiben el último paso de la síntesis de péptidoglucanos. (44)

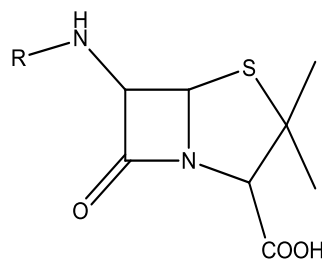


**Figura 9.** Mecanismo de acción de los  $\beta$ -lactámicos.

Fuente: Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11<sup>a</sup> ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p

#### a. PENICILINAS:

Son fármacos antibacterianos con un núcleo ácido 6-aminopenicilánico que consta de un anillo  $\beta$ -lactámico unido a otro tiazolidínico. (45)



**Figura 10.** Estructura química del ácido 6-aminopenicilánico, núcleo de las penicilinas

Fuente: Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11<sup>a</sup> ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p

La clasificación de las penicilinas se describe a detalle en el siguiente cuadro.

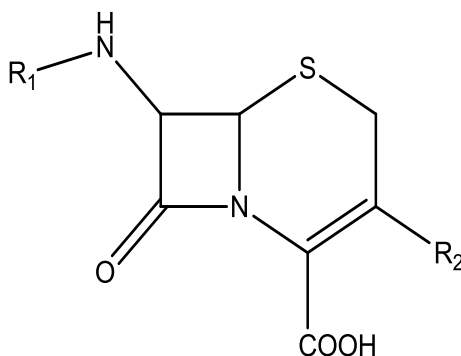
**Tabla 2.** Clasificación de penicilinas

Clasificación		Fármacos
Penicilinas naturales		Penicilina G Penicilina V
Penicilinas semisintéticas	Aminopenicilinas	Amoxicilina Ampicilina Bacampicilina
	Resistentes a $\beta$ -lactamasas	Cloxacilina Dicloxacilina Flucloxacilina Meticiclina Oxacilina Nafcilina
	Carboxipenicilinas	Carbenicilina Ticarcilina
	Acilaminopenicilinas	Azlocilina Mezlocilina Piperacilina

Fuente: Randa Hial D, Laurence L. Manual de farmacología y terapéutica. 2 edición. California; 2013. 948 p.

## b. CEFALOSPORINAS

Estos fármacos tienen un núcleo, ácido 7-aminocefalosporánico, tienen un anillo  $\beta$ -lactámico más estable que las penicilinas. (44)



**Figura 11.** Estructura química del ácido 7-aminocefalosporánico

Fuente: Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11ª ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p

La clasificación de las cefalosporinas se describe a detalle en la siguiente tabla.

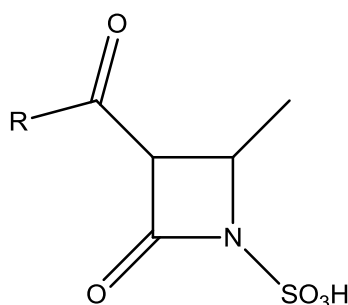
**Tabla 3.** Clasificación de cefalosporinas

<b>Clasificación</b>	<b>Fármacos</b>	
<b>1° generación</b>	Cefadroxilo Cefalexina Cefalotina	Cefalozina Cefradina Cefapirina
<b>2° generación</b>	Cefaclor Cefuroxima Cefamandol	Cefmetazol Cefoxitina Cefotiam
<b>3° generación</b>	Cefixima Ceftriaxona Cefdinir Cefodizima Cefoperazona	Cefotaxima Cefporamida Cefpodoxima Cefsulodina Ceftacidina
<b>4° generación</b>	Cefipima	Cefpiroma

**Fuente:** Randa Hial D, Laurence L. Manual de farmacología y terapéutica. 2 edición. California; 2013. 948 p.

### c. MONOBACTÁMICOS

Son fármacos antibacterianos que contienen un anillo  $\beta$ -lactámico monocíclico. Estos antibióticos tienen espectro extendido. El único monobactámico de disponibilidad para uso clínico es el Aztreonam. (45)

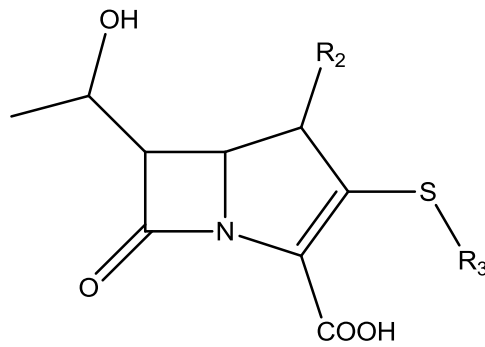


**Figura 12.** Estructura química general de los monobactámicos

Fuente: Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11<sup>a</sup> ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p

### d. CARBAPENEMS

Son fármacos antibacterianos con anillo  $\beta$ -lactámico unido a un ciclo sin el heterociclo, azufre. Son los  $\beta$ -lactámicos con mayor espectro de actividad conocido. (45)

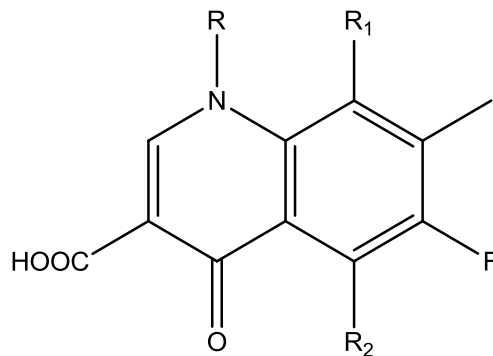


**Figura 13.** Estructura química general de los carbapenems

Fuente: Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11<sup>a</sup> ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p

### e. QUINOLONAS

Son antibióticos bactericidas fluorados derivados del ácido nalidíxico con gran espectro sobre Gram positivo y Gram negativo. (45)



**Figura 14.** Estructura química de una fluorquinolona.

Fuente: Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11<sup>a</sup> ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p

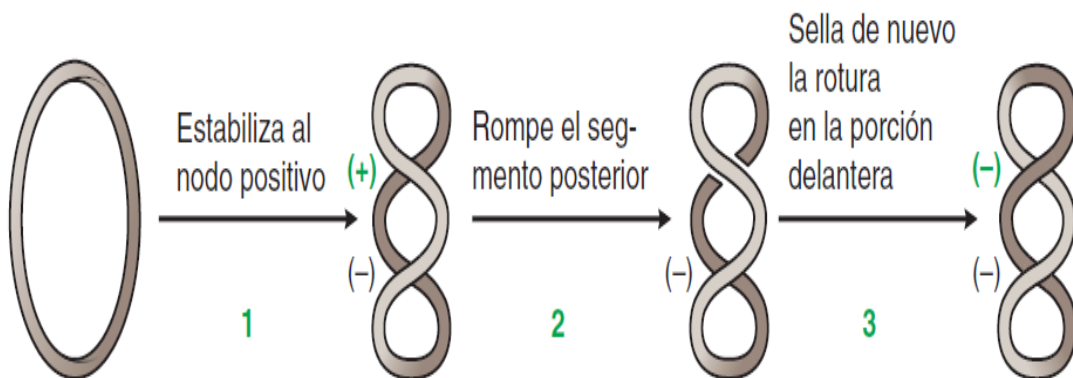
- **Mecanismo de Acción**

Las quinolonas actúan convirtiendo sus objetivos, girasas y topoisomerasas IV, en enzimas tóxicas que fragmentan el cromosoma bacteriano.

Para llevar a cabo sus funciones fisiológicas críticas, la girasa y la topoisomerasa IV generan rupturas bicatenarias en el cromosoma

bacteriano. Por lo tanto, si bien es esencial para la supervivencia celular, estas enzimas tienen el potencial de fragmentar el genoma. Las quinolonas aprovechan este último, y potencialmente letal, característico y destruyen las células al aumentar la concentración de complejos de escisión de la enzima-ADN. Por lo tanto, estos medicamentos se denominan "venenos de topoisomerasa" porque convierten la girasa y la topoisomerasa IV en toxinas celulares. En contraste, los "inhibidores catalíticos" bloquean las funciones catalíticas generales de estas enzimas sin aumentar los niveles de roturas de la cadena de ADN. (46)

Los antibacterianos de derivados de la quinolonas bloquean la síntesis de la DNA bacteriano por inhibición de la topoisomerasa II, la inhibición de la DNA girasa previene la relajación y es responsable de remover el súper enrollamiento para que la replicación del ADN pueda continuar, la inhibición de la topoisomerasa IV interfiere con la separación de los cromosomas y genera las dos células hijas. (45)



**Figura 15.** Mecanismo de acción de las quinolonas

Fuente: Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11<sup>a</sup> ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p

**Tabla 4.** Clasificación de quinolonas

<b>Clasificación</b>	<b>Fármaco</b>	<b>Espectro</b>
<b>1° Generación</b>	Ácido nalidixico Ácido pipemidico Flumequina	Enterobacterias <b>Bacilos Gramnegativos :</b> <i>E.coli, Proteus spp, Klebsiella spp</i> <i>Enterobacter spp, Serratia spp</i> <i>Citrobacter spp, Shigella spp.</i>
<b>2° Generación</b>	Ciprofloxacino Norfloxacino Ofloxacino Nufloxacino Nadifloxacino Nufloxacina	Mismas que la 1 era generación: Espectro extendido en bacilos gramnegativos ,indica cobertura contra cocáceas Gram positivas y “atípicos” <b>Bacilos gramnegativos:</b> <i>P.aeruginosa, M.catarrhalis, Acinetobacter spp</i> <i>,S.maltophilia,H.influenzae,</i> <i>N,gonorrhoeae, V,cholerae</i> <i>, Campylobacter spp.</i> <b>Cocáceas Gram positivas:</b> <i>S,áureos, S. epidermides .</i> <b>Patógenos atípicos:</b> <i>C.trachomatis,</i> <i>Mycoplasma spp.</i>
<b>3° Generación</b>	Levofloxacino Esparfloxacino Tosufloxacino Grepafloxacino Temafloracino	Mismas que la 2da generación, bacilos gramnegativos ,espectro extendido en cocáceas Gram positivos y “atípicos” <b>Bacilos Gram negativos:</b> los mismos que la 1ra y 2da generación. <b>Cocáceas Gram positivas :</b> <i>S.pneumoniae y S.pyogenes</i> <b>Patógenos atípicos:</b> <i>C.pneumoniae,</i> <i>M.pneumoniae.</i>
<b>4° Generación</b>	Balofloxacino Clinafloxacino Gatifloxacino Moxifloxacino Pazufloxacino	Mismas que la 3ra generación. Bacilos Gram positivos, espectro extendido en anaerobios y “atípicos”. <b>Cocáceas Gram positivos:</b> <i>:S.pneumoniae,S.aureus(resistente a la penicilina )</i> <b>Anaerobios:</b> <i>Bacteroides spp</i>

**Fuente:** Randa Hial D, Laurence L. Manual de farmacología y terapéutica. 2 edición. California; 2013. 948 p.

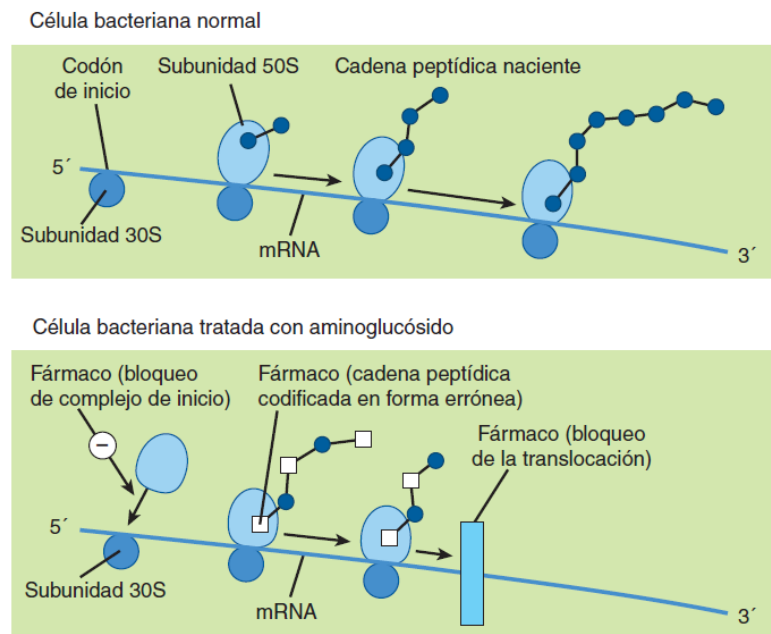
## f. AMINOGLUCÓSIDOS

Son antibióticos bactericidas que está definida por la presencia de dos o más aminoazúcares unidos por enlaces glucósido a un anillo

aminociclitol tiene espectro reducido, principalmente actúan sobre bacterias gram negativas y gran positivas. (45)

- **Mecanismo de Acción**

Los aminoglucósidos inhiben la síntesis proteica, para ello se une a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano provocando una lectura errónea de la plantilla de ARNm y no sintetizar la proteína. (45)



**Figura 16.** Mecanismo de acción de los aminoglucósidos

Fuente: Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11<sup>a</sup> ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p

### g. TETRACICLINAS

Las tetraciclinas son una serie de derivados de una estructura con cuatro anillos básicos que se ejemplifica a continuación con la doxiciclina. (45)

- **Mecanismo de acción**

La tetraciclinas inhiben la síntesis bacterianas de proteínas al unirse con el ribosoma 30sbacteriano al impedir el acceso de aminoacil t RNA al sitio aceptor (A) en el complejo n RNA – ribosoma estos fármacos ingresan a la



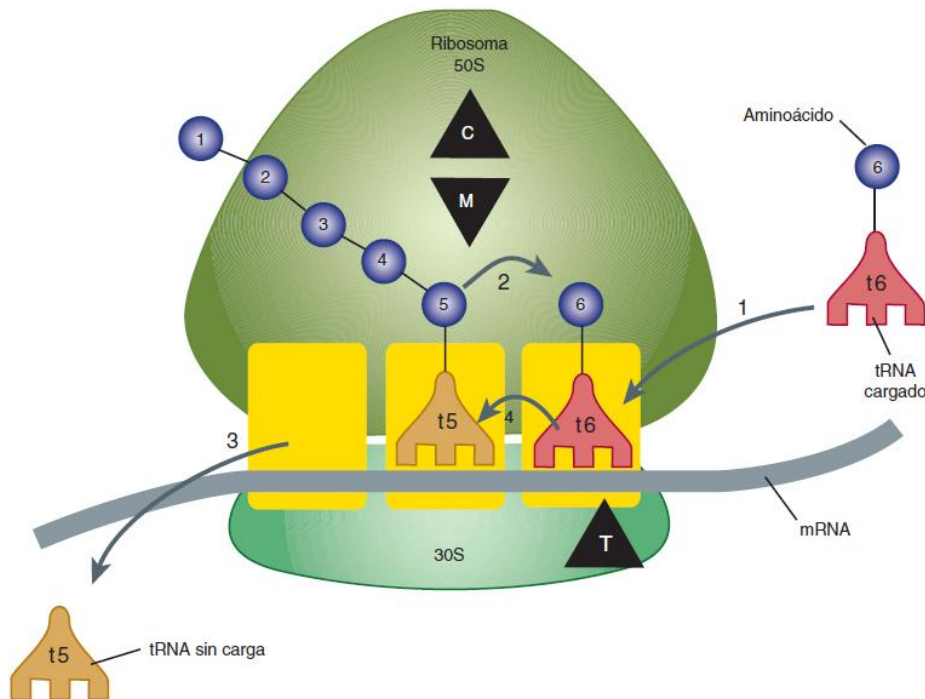
bacteria gram negativas por difusión pasiva a través de los conductos formados por la porinas en las membranas celular externa y por transporte activo que bombea a las tetraciclinas a través de la membrana citoplasmática. (44)

## h. MACRÓLIDOS

Los Macrólidos son antibióticos bacteriostáticos, pero a concentraciones elevadas pueden ser bactericidas, su clasificación se debe a la cantidad de átomos de carbono en su estructura química. (45)

- **Mecanismo de acción:**

Los Macrólido inhiben la síntesis proteica bacteriana uniéndose a la sub unidad 50S del ribosoma bacteriano. Se une al mismo lugar fenicoles y lincosamidas por lo que administrados conjuntamente, pueden competir entre sí. (47)



**Figura 17.** Mecanismo de acción de los macrólidos

Fuente: Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11<sup>a</sup> ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p

### **2.2.9 Generalidades de las bacterias Gram positivos y Gram negativos**

Las bacterias tienen células procariotas, es un organismo celular sin núcleo definido; conocidas como unicelulares. Sin membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi ni retículo endoplásmico se reproducen a través de división asexual. Los cuales sólo pueden visualizarse adecuadamente a través del microscopio.

#### **a. *Staphylococcus aureus***

- **Patogenia**

Los factores de virulencia patógena son las características genéticas, bioquímicas o estructurales que permiten a un organismo causar una enfermedad. Las consecuencias clínicas de una infección dependen de la virulencia del patógeno y de la efectividad de los mecanismos patógenos de este microorganismo dependen de sus factores agresivos, las toxinas y enzimas estafilocócicas y sus defensas contra la inmunidad.

- **Importancia clínica**

*Staphylococcus aureus* es el causante de diversos procesos infecciosos que van desde infecciones cutáneas hasta enfermedades sistémicas mortales.

- **Infecciones cutáneas localizadas**

Las infecciones de *S. aureus* más corrientes son abscesos pequeños y superficiales de los folículos pilosos (foliculitis) o de las glándulas sudoríparas o sebáceas. Por ejemplo, el orzuelo común se produce por la infección de un folículo de una pestaña.

- **Endocarditis aguda**

Generalmente va asociada a la administración de drogas por vía intravenosa y es causada por la inyección de preparados contaminados o por agujas contaminadas con *S. aureus*, la bacteria puede introducirse en los tejidos blandos y el torrente sanguíneo.

- **Neumonía**

*S. aureus* es responsable de una neumonía necrosante grave.

- **Infecciones hospitalarias**

*S. aureus* es uno de los responsables más habituales de las infecciones adquiridas en un hospital. Suele infectar heridas (quirúrgicas, decubitales) o provocar bacteriemias asociadas a catéteres. A menudo, la progresión de estas infecciones termina en una septicemia

- **Gastroenteritis:**

Es causada por la ingestión de alimentos contaminados con la enterotoxina producida por *S. aureus*. A menudo contaminados por la persona que los manipula, estos alimentos suelen ser ricos en proteínas.

- **Las intoxicaciones alimentarias:**

Causadas por estafilococos tienen un período de incubación corto porque las toxinas que contiene el alimento ya han sido generadas por los estafilococos antes de la ingestión del mismo.

- **Tratamiento farmacológico**

Las infecciones graves de *S. aureus* requieren tratamientos agresivos, incluidos la incisión y el drenaje de las lesiones localizadas, así como el uso de antibióticos sistémicos. La elección de antibióticos se complica por la frecuente presencia de determinantes adquiridos de resistencia antibiótica. Actualmente, casi todas las infecciones de *S. aureus* tanto las adquiridas en la comunidad (extrahospitalarias) como las nosocomiales son resistentes a la penicilina G debido a los plásmidos o transposones que codifican para la penicilinasa. Ello ha requerido el cambio del agente de primera opción, la penicilina G, por penicilinas resistentes a la  $\beta$ -lactamasa, como la meticilina y la oxacilina. Sin embargo, el incremento del uso de la meticilina y otros antibióticos relacionados ha comportado la aparición de *S. aureus* resistente a la meticilina.

- **Prevención**

No existe ninguna vacuna efectiva contra *S. aureus*. Los protocolos de control de la infección, como las barreras de precaución y la desinfección de las manos y los objetos de contagio, son de gran importancia para el control de las epidemias nosocomiales de *S. aureus*.

**b. *Pseudomonas aeruginosa***

- **Patogenia**

Esta bacteria posee 1 flagelo para moverse que sirve de intermediario para interacciones superficiales. *P. aeruginosa* además contiene varios pili de la superficie celular (tipo IV) responsables de la adherencia a las membranas celulares y otras superficies. En el tracto respiratorio, el glucolípido asialo-gangliósido M1 es un objetivo para la unión a la superficie de las células epiteliales. El aGM1 se expresa al máximo durante la explicación de la observación de que *P. aeruginosa* solo se ha adherido al epitelio respiratorio lesionado. (1)

- **Enfermedades Clínicas**

A pesar de que esta bacteria tenga la capacidad de colonizar órganos del cuerpo, la prevalencia de este es mínima sobre pacientes inmunocompetentes y sanos. Por el contrario en pacientes hospitalizados, ya que la prevalencia de *P. aeruginosa* es mucho mayor en pacientes hospitalizados. (1)

- **Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)**

La infección bacteriana juega un papel importante en el curso y la patogénesis de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). La prevalencia por *Pseudomonas aeruginosa* varía entre 4 al 15% de los adultos con EPOC. Sin embargo, la dinámica del transporte a lo largo del tiempo, la respuesta del huésped y el papel de *P. aeruginosa* en el curso clínico de la EPOC no están bien caracterizados. La infección por *P. aeruginosa* juega un papel importante en el curso de otras enfermedades pulmonares crónicas, incluida la fibrosis quística.

- **Infecciones del aparato urinario**

Las infecciones urinarias son el 2º tipo de infección más común en el cuerpo. La cateterización del tracto urinario es el factor más común, que predispone al huésped a estas infecciones. (1)

- **Infecciones dérmicas:**

Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* de piel sana son poco frecuentes. *Pseudomonas aeruginosa* está ampliamente distribuida, especialmente en ambientes acuosos. Es una suerte que la epidermis humana y las estructuras asociadas sean relativamente resistentes a las infecciones con este organismo ubicuo. Cuando se producen tales infecciones, generalmente están relacionadas con trastornos de la piel, como quemaduras, sitios de cateterización intravenosa o úlceras de la piel debido a lentes de contacto blandas. Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* se asocian frecuentemente con soluciones contaminadas. Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* en pieles sanas no son habituales. Las formas leves de infección de *Pseudomonas aeruginosa* en la piel pueden ocurrir en áreas que contienen mayor humedad, incluyendo uñas. Las uñas onicolíticas, con o sin la característica decoloración verdosa, pueden ocurrir después de la inmersión crónica y repetida de los dedos en el agua, mientras que las infecciones individuales con la red del dedo del pie por lo general funcionan en climas cálidos y húmedos y tienen los pies húmedos de manera persistente con la descamación crónica de los tejidos de la tela.

- **Tratamiento farmacológico**

Esta es una bacteria capaz de producir resistencia a diversos antibióticos. Algunas cepas son sensibles a: Monobactámicos (Aztreonam), penicilinas (carbenicilina, piperacilina y nafacilina), cefalosporinas (cefotaxima, ceftazidima, cefuroxima, cefepime), quinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino, norfloxacino), fenicoles (cloranfenicol), carbapenémicos (faropenem, meropenem, doripenem), aminoglucósido (gentamicina), macrólido (eritromicina) y tetraciclinas (tetraciclina y tigeciclina). (48)

## 2.2 Formulación de hipótesis.

### 2.3.1 Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presenta actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

### 2.3.2 Hipótesis específicas

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presenta metabolitos secundarios como flavonoides y taninos.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) posee actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 a diferentes concentraciones
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presentará mayor actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 comparado con ciprofloxacino y gentamicina respectivamente.

## 2.3 Variables

### 2.4.1 Tabla de operacionalización de variables

Tabla 5. Operacionalización de variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	INSTRUMENTO
V. independiente Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle L.</i> (Molle)	Fitoquímico	Reacciones de coloración y precipitación <ul style="list-style-type: none"><li>• Flavonoides</li><li>• Taninos</li><li>• Quinonas</li><li>• Alcaloides</li><li>• Terpenos</li></ul>	Ficha de observación
V. dependiente Actividad antibacteriano	Microbiológico	Medición del diámetro de inhibición (Halos de inhibición)	Ficha de observación

## 2.4 Definición de términos básicos.

1. **Actividad antimicrobiana:** es una sustancia que impide la reproducción de microorganismos como (hongos, bacterias, paracitos). (41)
2. **Antibacteriano:** Son sustancias de origen natural, semisintético y sintético que tienen la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de bacterias. (2)
3. **Agente antibacteriano:** agente antibacteriano es toda sustancia que tiene la propiedad de inhibir la multiplicación de bacterias. (45)
4. **Bacteria Gram positivas:** son aquellas bacterias que se tiñen de color violeta o azul en contacto con la tinción Gram, gracias a la capa del péptidoglucano. (49)
5. **Bacterias Gram negativas:** estas bacterias tienen una coloración de color rosado por la tinción Gram, esto se debe que la pared es delgada y la capa del peptidoglucanos no retiene en complejo cristal violeta. (49)

6. **Bacterias Aerobias:** necesitan obligatoriamente el oxígeno para poder desarrollarse porque lo quieren como aceptor final de electrones en la cadena respiratoria. (49)
7. **Bacterias Anaerobias:** se desarrollan en la ausencia de oxígeno libre y su presencia la inhibe o las mata. (49)
8. **Bacterias anaerobias facultativas:** no necesita oxígeno para su desarrollo normal, pero si está presente lo puede utilizar metabólicamente. (49)
9. **Cepa bacteriana:** son células o clones que derivan la reproducción de una célula inicial.(49)
10. **Extractos vegetales:** son resultados en el cual se utilizó diferentes solventes para extraer su principio activo. (41)
11. **Extracto hidroalcohólico:** son extractos líquidos compuesto de alcohol y agua, que se utilizan como solventes para la extracción de los metabolitos de las plantas (hojas, tallo, fruto) tiene color, olores característicos de la planta utilizada.
12. **Inhibición bacteriana:** la inhibición consiste en agregar una sustancia química que inhiba el crecimiento bacteriano.
13. **Halos de inhibición:** es el diámetro de inhibición de un disco de antibiótico que puede ser medida con una regla o calibrador automático para interpretar la prueba de sensibilidad.
14. **Solubilidad:** Es la capacidad que tiene una sustancia para disolverse o mezclarse con el solvente. (50)



## CAPITULO III: MÉTODO

### 3.1 Tipo de estudio

#### 1. Experimental

Este estudio es de tipo experimental, puesto que se manipula intencionalmente la variable independiente (Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle), para analizar las consecuencias que produce sobre la variable dependiente (Actividad antibacteriana *in vitro*) dentro de una situación de control. (51)

#### 2. Transversal

Es transversal ya que las variables no son relacionadas, solo se mide la variable en un solo momento.

#### 3. Prospectivo

La presente investigación se ejecuta en el presente y se recolectan datos del mismo tiempo.

### 3.2 Diseño a utilizar

Esta investigación por su diseño es experimental "*in vitro*"

### 3.3 Población

- **Población vegetal:**

Plantas de *Schinus molle* L. (Molle) del distrito de Huasahuasi - Tarma, departamento de Junín.

- **Población microbiológica:**

Microorganismos bacterianos de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

### 3.4 Muestra

- **Muestra vegetal**

2 kg de hojas de *Schinus molle* L. (Molle).

- **Muestra microbiológica:**

Cepas estandarizadas:

- *Staphylococcus aureus* (ATCC® 6538™)
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 9027™)

### **3.4.1 Preparación de la muestra**

Se recolectó 2 kg de hojas de *Schinus molle* L. En el Pueblo de Huasahuasi Provincia de Tarma, departamento de Junín, altitud 3.050 msnm, el 30 de agosto del 2018 entre las 7 am y 9 am. Se lavó las hojas seleccionadas con agua destilada, luego se pone en papel Kraft y es llevado a la estufa a una temperatura de 40 °C durante 2 días, obteniendo 798 gramos de hojas secas.

### **3.4.2 Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L (Molle).**

En un frasco ámbar se colocó 798 gr de hojas secas molidas y se agregó 1000 mL de solvente (etanol-agua: 7: 3).

Se dejó macerar durante una semana, previa agitación diaria (2 minutos). Se filtró con papel Whatman N° 40. Luego se filtró el líquido resultante para finalmente ser concentrado en el rotavapor, con un baño de calor <50 °C, hasta 20 mL. Después el líquido fue concentrado a sequedad en una estufa a 40 °C para obtener 65 g de extracto seco.

### **3.4.3 Prueba de solubilidad**

Se tomó 8 tubos y se agregó 0.1 g de extracto de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) en cada uno de ellos y luego se vertió 1 mL de los disolventes: cloroformo, isopropanol, alcohol 96°, agua destilada, éter, benceno, acetona y etanol. (50)

### 3.4.4 Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico

Se pesó 2 g de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) *s molle* L. y se disolvió en 10 mL de etanol. Luego se vertió 0.5 mL del extracto hidroalcohólico en 12 tubos de ensayo usados para el tamizaje fitoquímico. Se rotuló y realizó el ensayo de tamizaje fitoquímico según la siguiente tabla. (40) (Anexo 2)

**Tabla 6.** Tamizaje fitoquímico

<b>Tubo N°</b>	<b>Metabolito</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>Ensayo</b>	<b>Reacción positiva</b>
1	Quinonas	Extraer con 0.5 mL CHCl <sub>3</sub> . Extracto CHCl <sub>3</sub> + V gts NaOH 5%	Borntrager	Rojo fase acuosa
2	Comp. fenólicos	II gts de reactivo	FeCl <sub>3</sub>	Azul o verde
3	Flavonoides	Limadura de Mg + HCl []	Shinoda	Rojos-naranja
4	Antocianinas	II gts de NaOH 10%	NaOH	Verde-morado
5	Taninos	II gts de NaOH 10%	Gelatina-sal	Ppdo
6	Taninos	II gts de NaOH 10%	Gelatina	Ppdo
7	Alcaloides	II gts HCl 10 % + II gts de reactivo	Drangendorff	Ppdo rojo
8	Alcaloides	II gts HCl 10 % + II gts de reactivo	Mayer	Ppdo marrón
9	Alcaloides	II gts HCl 10 % + II gts de reactivo	Wagner	Ppdo blanco
10	Triterpenos esteroides	0.5 mL CHCl <sub>3</sub> . + II gts ácido acético	Liebermann-burchard	Verde - azul
11	Lactona α,β insaturadas	II gts de reactivo	Baljet	Rojo
12	Saponinas	V gts de agua destilada	Espuma	Espuma
13	Azúcares reductores	V gts fehling A + V gts fehling B	Fehling	Ppdo rojo
14	Amoniácidos	II gts reactivo	Ninhidrina	Azul

15	Carbohidratos	V gts $\alpha$ -naftol+ 1 mL gts H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> [ ]	Molish	Anillo violáceo
----	---------------	---	--------	-----------------

Fuente: Elaboración propia

### 3.4.5 Ensayo Microbiológico

- **Preparación del estándar 0.5 de McFarland**

Se preparó la solución de cloruro de bario 0.048 M y para ello, se pesó 0.499 g de cloruro de bario y posteriormente fue disuelto con agua destilada en un matraz aforado de 50 mL.

Se preparó una solución de ácido sulfúrico 0.18 M y para ello, se disolvió 1.01 mL de ácido sulfúrico concentrado en un matraz aforado de 100 mL.

El estándar 0.5 de McFarland fue obtenido disolviendo 0.5 mL de la solución de cloruro de bario 0.048 M con 95.5 mL de ácido sulfúrico 0.18M. (52)

- **Preparación del inóculo**

Se pesó 3 g de caldo deshidratado de Tripticasa Soya para luego ser disuelto con 100 mL de agua destilada. La solución resultante contenida en un frasco de vidrio transparente se esterilizó en una autoclave a 121°C durante 15 min. El caldo esterilizado se vertió a un tubo de ensayo después de enfriarse.

Las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 fueron tomadas de dos tubos de ensayo con Tripticasa Soya Caldo y se sembraron en otros tubos de ensayo con Tripticasa Soya Caldo ayudados de un asa de siembra para ser incubadas durante 24 horas a 37° C en las instalaciones del laboratorio de la Universidad Inca Garcilaso de la vega.

Los caldos resultantes mostraron turbidez (evidencia del crecimiento bacteriano) después de las 24 horas de incubación. La turbidez de ambos se ajustó a la turbidez del estándar previamente preparado (0.5 McFarland)

con solución salina (NaCl 0.9 %), por comparación visual, se miró los tubos delante de un fondo blanco con líneas negras para un mejor contraste. Con el objetivo de que la suspensión preparada presente cerca de  $1$  a  $2 \times 10^8$  UFC/ mL de la cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. (52)

- **Inoculación de las placas**

Se pesó 4,0 g de medio Agar Soya Tripticasa (TSA) por cada 100 mL de agua destilada (la cantidad de medio preparado se realizó según la cantidad de placas a trabajar), se procedió con la homogenización en baño María hasta lograr la disolución completa.

Luego se procedió con la esterilización en la autoclave del medio de cultivo a  $121^{\circ}\text{C}$  y 15 lb de presión por un periodo de 15 minutos.

Se incorporó empleando la micro pipeta un volumen de 100  $\mu\text{L}$  del inóculo estandarizado de ***Staphylococcus aureus*** por cada 100 mL de agar preparado, homogenizando con movimientos circulares, se repitió la misma metodología para el inóculo estandarizado de ***Pseudomonas aeruginosa***.

Se utilizó una pipeta de 25 mL donde depositamos el Agar Soya Tripticasa (TSA) que contiene el inóculo estandarizado de *Staphylococcus aureus* en una placa Petri, dejando solidificar por un lapso mínimo de 10 minutos a temperatura ambiente, rotular la placa, repetir la misma metodología para el medio de cultivo que contiene el inóculo estandarizado de *Pseudomonas aeruginosa* (anexo 4)

- **Preparación de las soluciones**

**Para el estudio microbiológico se trabajó con tres concentraciones al 60%, 75%, 90% frente a la cepa *Staphylococcus aureus*.**

- ✓ **preparación del extracto hidroalcohólico:**

$$\% \frac{p}{v} = \frac{\text{Soluta g}}{\text{Volumen total}} \times 100$$

$$\frac{9 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 100 = 90 \%$$

Extracto 90%: Se pesó 9 g de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. y se aforó con dimetilsulfoxido (DMSO) en una fiola de 10 mL.

Extracto 75%: Se tomó 2 mL de la solución anterior y se le agregó 0.4 mL de DMSO y posteriormente se homogenizó.

Extracto 60%: Se tomó 2 mL de la solución con el extracto 90 % y luego se mezcló con 1 mL de DMSO.

#### ✓ Preparación del estándar gentamicina 80 mg/ MI

Se usó una ampolla de gentamicina 160 mg/ 2ml.

**Para realizar el estudio microbiológico se trabajó con tres concentraciones: 20%, 60%, 80% frente a la cepa *Pseudomonas aeruginosa*.**

#### ✓ Preparación del extracto hidroalcohólico

$$80 \% = \frac{8 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 100$$

$$CC_1 \times V_1 = CC_2 \times V_2$$

$$80 \% \times 1.5 \text{ mL} = 60 \% \times V_2$$

$$2 \text{ mL}$$

$$80 \% \times 0.5 \text{ mL} = 20 \% \times V_2$$

$$2 \text{ mL}$$

Extracto 80 %: Se pesó 8 g de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* y se aforó con DMSO en una fiola de 10 mL.

Extracto 60 %: Se tomó 1.5 mL de la solución anterior y se le agregó 0.5 mL de DMSO y posteriormente se homogenizó.

Extracto 20 %: Se tomó 0.5 mL de la solución con el extracto 90 % y luego se mezcló con 1.5 mL de DMSO.

### ✓ Preparación del estándar ciprofloxacino 180 mg/ml

$$\begin{array}{lcl} 180 \text{ mg} & \text{-----} & 1 \text{ mL} \\ x & \text{-----} & 10 \text{ mL} \\ x=1800 \text{ mg} & & \end{array} \qquad \begin{array}{lcl} 4085 \text{ mg} & \text{-----} & 2000 \text{ mg} \\ x & \text{-----} & 1800 \text{ mg} \\ x=3676.5 \text{ mg} & & \end{array}$$

Se pesaron 4 tabletas de ciprofloxacino de 500 mg (4085 mg) y se machacaron con un mortero sobre un pilón hasta polvo fino. Se pesó 3676 mg del polvo resultante y se vertió en una fiola de 10 mL para luego ser enraizado con DMSO. Se obtuvo finalmente una solución de ciprofloxacino 180mg/mL.

Con un sacabocado estéril de 6 mm de diámetro se hicieron tres pozos equidistantes en las placas previamente inoculadas. Luego se vertieron 100 µl de cada una de las soluciones por pozo distribuidas de la siguiente manera:

#### Para las placas inoculadas con *Staphylococcus aureus*

- 5 placas, los grupos DMSO; ciprofloxacino 180 mg/mL y extracto 60 %.
- 5 placas, los grupos DMSO; ciprofloxacino 180 mg/mL y extracto 75 %.
- 5 placas, los grupos DMSO; ciprofloxacino 180 mg/mL y extracto 90 %.

#### Para las placas inoculadas con *Pseudomonas aeruginosa*

- 5 placas, los grupos DMSO; ciprofloxacino 180 mg/mL y extracto 20 %.
- 5 placas, los grupos DMSO; ciprofloxacino 180 mg/mL y extracto 60 %.
- 5 placas, los grupos DMSO; ciprofloxacino 180 mg/mL y extracto 80 %.

Luego de 24 horas de se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano, con un vernier digital, producidos por los pozos de difusión.

### 3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para la recolección de los datos de la presente investigación se utilizaron las fichas de observación ad hoc.

### 3.6 Procesamiento de Datos

Para la recolección de los datos de la presente investigación se utilizaron las fichas de observación.

### 3.7 Validación de Instrumentos

Para la validación del instrumento usado en la presente investigación se requirió del juicio de valoración por expertos (Anexo 11).

- Dr. Q.F. Vilchez Caceda, Héctor
- Mg. Pineda Páez, Mario
- Mg. Flores López, Oscar

### 3.8 Materiales :

Tabla 7. Materiales usados en el laboratorio

Fiolas de 50 mL	Papel Kraft
Embudo de vidrio	Pera de bromo de 250 mL
Tubos de ensayo	Pipeta de 25 mL
Placas Petri	Sacabocado
Tubos de ensayo de 15 x150	Mechero de bunsen
Micropipetas de 100 µl	Asa de kolle
Matraz Erlenmeyer 250 y 500 mL	Gradilla para tubos de ensayo

Fuente: Elaboración propia



Tabla 8. Equipos usados en el laboratorio

<b>Equipos</b>	
Balanza analítica Sartorius ENTRIS224I-1S	Autoclave vertical Gemmy SA-232V
Incubadora Binder BD 115	Plancha de calentamiento Velp RC
Rotavapor	Estufa Binder Binder BD 260
Vernier digital Steren HER-411	Baño maría Lab Companion BW-10G

Fuente: Elaboración propia

## CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUCIONES

### 4.1 Presentación de resultados

#### 4.1.1 Resultado de la prueba de Solubilidad

Los resultados de la prueba de solubilidad se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados del ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle)

Tubo N°	Cantidad	Disolvente	Resultado
1	0.1 g	1 mL Etanol 96°	+++
2	0.1 g	1 mL Metanol	++
3	0.1 g	1 mL Cloroformo	-
4	0.1 g	1 mL Agua	++
5	0.1 g	1 mL Isopropanol	-
6	0.1 g	1 mL Éter	-
7	0.1 g	1 mL Acetona	-
8	0.1 g	1 mL Benceno	-

(-): Insoluble; (+): Poco soluble; (++) Solubilidad moderada y (+++): Muy soluble  
Fuente: Elaboración propia

En la tabla 9: se observa que el extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (Molle) es soluble en metanol, etanol 96 °C y agua.

#### 4.1.2 Resultados del tamizaje fitoquímico

Los resultados de la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 10. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle)

Tubo N°	Metabolito	Ensayo	Reacción positiva	Resultado
1	Quinonas	Boritrager	Rojo fase acuosa	+
2	Comp. fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	Azul o verde	+++
3	Flavonoides	Shinoda	Rojos-naranja	+++
4	Antocianinas	NaOH	Verde-morado	-
5	Taninos	Gelatina-sal	Ppdo	++
6	Taninos	Gelatina	Ppdo	++
7	Alcaloides	Drangendorff	Ppdo rojo	-
8	Alcaloides	Mayer	Ppdo marrón	-
9	Alcaloides	Wagner	Ppdo blanco	-
10	Triterpenos esteroides	Liebermann-burchard	Verde azul	- +
11	Lactona $\alpha,\beta$ insaturadas	Baljet	Rojo	++
12	Saponinas	Espuma	Espuma	++
13	Azúcares reductores	Fehling	Ppdo rojo	-
14	Amoniácidos	Ninhidrina	Azul	-
15	Carbohidratos	Molish	Anillo violáceo	-

(-): Ausencia; (+): Leve; (++): Moderado y (+++): Abundante

Fuente: Elaboración propia

**En la tabla 10:** Se observa que el extracto contiene quinonas (+), comp. fenólicos (+++), flavonoides (+++), taninos (++) , triterpenos/esteroides (+), lactonas  $\alpha,\beta$  insaturadas (++) , saponinas (++) .

#### 4.1.3 Los resultados en la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle)

Los resultados del ensayo antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) se muestran en la siguiente tabla.

**Tabla 11.** Resultado de Halos de Inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* L. (Molle). frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*

Halos de inhibición en (nm) en la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>					
Placa N°	GRUPO 1 EXTRACTO AL 60%	GRUPO 2 EXTRACTO AL 75%	GRUPO 3 EXTRACTO AL 90%	GRUPO 4 Ciprofloxacino (+)	GRUPO 5 DMSO (-)
	24 h.	24 h.	24 h.	24 h.	24 h.
1	18.0	24.0	32.0	45.6	0.0
2	18.4	23.7	31.4	45.2	0.0
3	18.2	23.5	31.6	46.0	0.0
4	18.8	24.0	31.2	45.8	0.0
5	18.9	23.9	31.8	45.3	0.0
<b>MEDIA</b>	<b>18.5</b>	<b>23.8</b>	<b>31.6</b>	<b>45.6</b>	<b>0.0</b>

Fuente: Elaboración propia

Los resultados fueron interpretados según la escala de Duraffourd:

- Nula (-) diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible +) diámetro entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible ++) diámetro entre 14 y 20 mm.
- Sumamente sensible (+++) diámetro superior a 20 mm.

**En la tabla 11:** se observa que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle). Al 60 % presenta actividad antibacteriana con una sensibilidad media (muy sensible ++). Mientras que a las concentraciones de 75 % y 90 %, presentan actividad antibacteriana con una sensibilidad sumamente sensible (+++)

**Tabla 12** Resultado de Halos de Inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* L. (Molle) frente a la cepa de *Pseudomonas auriginosa*.

Halos de inhibición en (nm) en la cepa de <i>Pseudomonas auriginosa</i>					
Placa N°	GRUPO 1 EXTRACTO AL 20%	GRUPO 2 EXTRACTO AL 60%	GRUPO 3 EXTRACTO AL 80%	GRUPO 4 Gentamicina(+)	GRUPO 5 DMSO(-)
	24 h.	24 h.	24 h.	24 h.	24 h.
1	0	21.0	28.4	44.2	0.0

2	0	20.9	29.0	44.7	0.0
3	0	20.7	28.8	45.1	0.0
4	0	20.4	28.6	44.6	0.0
5	0	20.8	29.0	44.8	0.0
<b>MEDIA</b>	<b>0.0</b>	<b>20.8</b>	<b>28.8</b>	<b>44.7</b>	<b>0.0</b>

Fuente: Elaboración propia

Los resultados fueron interpretados según la escala de Duraffourd:

- Nula (-) diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible +) diámetro entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible ++) diámetro entre 14 y 20 mm.
- Sumamente sensible (+++) diámetro superior a 20 mm

**En la tabla 12:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) a una concentración de 20 % presenta actividad antibacteriana nula (-). Mientras que a las concentraciones de 60 % y 80 %, presentan actividad antibacteriana con una sensibilidad sumamente sensible (+++).

#### 4.1.4 Pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas

Para la prueba de Normalidad de datos se verifico que los halos de inhibición obtenidos tengan una distribución normal y para ello se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk, al tratarse de la muestra inferior a 30 unidades. Para determinar la homogeneidad de varianzas se utilizó el test de Levene.

**Prueba de normalidad para los halos de inhibición obtenidos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* se muestran en la tabla 12.**

**Tabla 13.** Prueba de normalidad de los resultados de ensayo antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) frente a *Staphylococcus aureus*

	Tratamiento	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	p-valor
Halo_inhibición	Extracto 60%	,212	5	,200	,932	5	,613
	Extracto 75%	,244	5	,200	,871	5	,272
	Extracto 90%	,136	5	,200	,987	5	,967
	Ciprofloxacino	,199	5	,200	,950	5	,737

Fuente: Elaboración propia

**La tabla 13:** Muestra que el p-valor en todos los grupos es mayor a 0.05, por lo tanto los resultados presentan distribución normal.

**Homogeneidad de varianzas de los halos de inhibición obtenidos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* se muestran en la tabla 14**

Tabla 14. Prueba de homogeneidad de varianzas de los resultados de ensayo antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) frente a *Staphylococcus aureus*

Estadístico de Levene	df1	df2	p-valor
,732	3	16	,548

Fuente: Elaboración propia

**La tabla 14:** Muestra que el p-valor es mayor a 0.05, por lo tanto los resultados presentan homogeneidad en sus varianzas.

**Prueba de normalidad para los halos de inhibición obtenidos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepas de *Pseudomonas auriginosa* se muestran en la tabla 15.**

**Tabla 15.** Prueba de normalidad de los resultados de ensayo antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) frente a *Pseudomonas auriginosa*

	Tratamiento	Kolmogorov-Smirnov <sup>b</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	p-valor
Halo_inhibición	Extracto 60%	,197	5	,200	,943	5	,685
	Extracto 80%	,221	5	,200	,902	5	,421
	Gentamicina	,203	5	,200	,976	5	,914

Fuente: Elaboración propia

**La tabla 15:** Muestra que el p-valor en todos los grupos es mayor a 0.05, por lo tanto los resultados presentan distribución normal.

**Homogeneidad de varianzas de los halos de inhibición obtenidos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* se muestran en la tabla 16.**

**Tabla 16.** Prueba de homogeneidad de varianzas de los resultados de ensayo antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (**Molle**) frente a *Staphylococcus aureus*

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
,164	2	12	,850

Fuente: Elaboración propia

**La tabla 16:** Muestra que el p-valor es mayor a 0.05, por lo tanto los resultados presentan homogeneidad en sus varianzas.

#### **4.2 Contrastación de hipótesis**

La hipótesis principal corresponde a:

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presenta actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Debido a la complejidad de las variables de medición, está se subdividió en hipótesis específicas.

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presenta metabolitos secundarios como flavonoides y taninos.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) posee actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 a diferentes concentraciones
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de

*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 comparado con ciprofloxacino y gentamicina respectivamente.

#### **A. Contrastación de hipótesis específica 1**

**H<sub>0</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) no presenta metabolitos secundarios como flavonoides y taninos.

**H<sub>1</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presenta metabolitos secundarios como flavonoides y taninos.

El ensayo de tamizaje fitoquímico realizado en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) evidenció la presencia de terpenos, lactonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas, saponinas, quinonas, taninos, flavonoides y otros compuestos fenólicos (tabla 10).

**Decisión:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presenta flavonoides y taninos. Se rechaza la hipótesis nula

#### **B. Contrastación de hipótesis específica 2**

**H<sub>0</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) no posee actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 a diferentes concentraciones.

**H<sub>1</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) posee actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 a diferentes concentraciones.



### Datos estadísticos:

En la tabla 11: se observa que las cepas de *Staphylococcus aureus* presentan sensibilidad media frente al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (molle) a 60 % y muy sensible a 75 y 90 % según la escala de Durafford

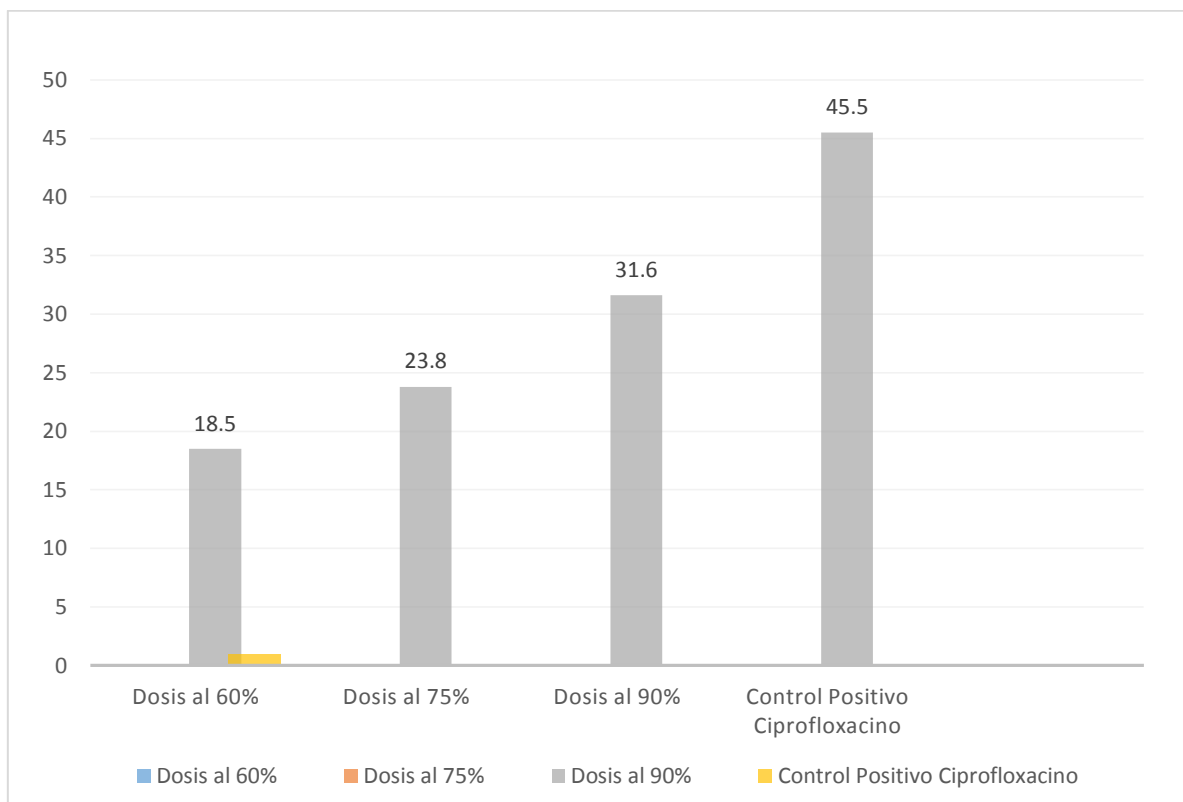


Figura 18. Medidas de halo de inhibición frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 18: Se observa que el extracto de *Schinus molle* L. (Molle) presenta actividad antibacteriana al 90% con un halo de inhibición (45,5mm), al 75% con un halo de inhibición (23.8mm) y al 60% con un halo de inhibición (18.5mm) según la escala de Durafford.

Tabla 17. Comparaciones múltiples mediante el test de Dunnett para determinar la actividad antimicrobiana del extracto frente a *Staphylococcus aureus*

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	p-valor	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Extracto	Dimetilsulfóxido	18,46000	,18044	,000	17,981	18,938

60%	o	*			6	4
Extracto 75%	Dimetilsulfóxido	23,82000*	,18044	,000	23,3416	24,2984
Extracto 90%	Dimetilsulfóxido	31,60000*	,18044	,000	31,1216	32,0784
Gentamicina	Dimetilsulfóxido	45,58000*	,18044	,000	45,1016	46,0584

\*:La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: Elaboración propia

La tabla 17: muestra diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.0001$ ) entre los halos de inhibición de los grupos Extracto 60, 75 y 90 % respecto al control negativo (dimetilsulfóxido).

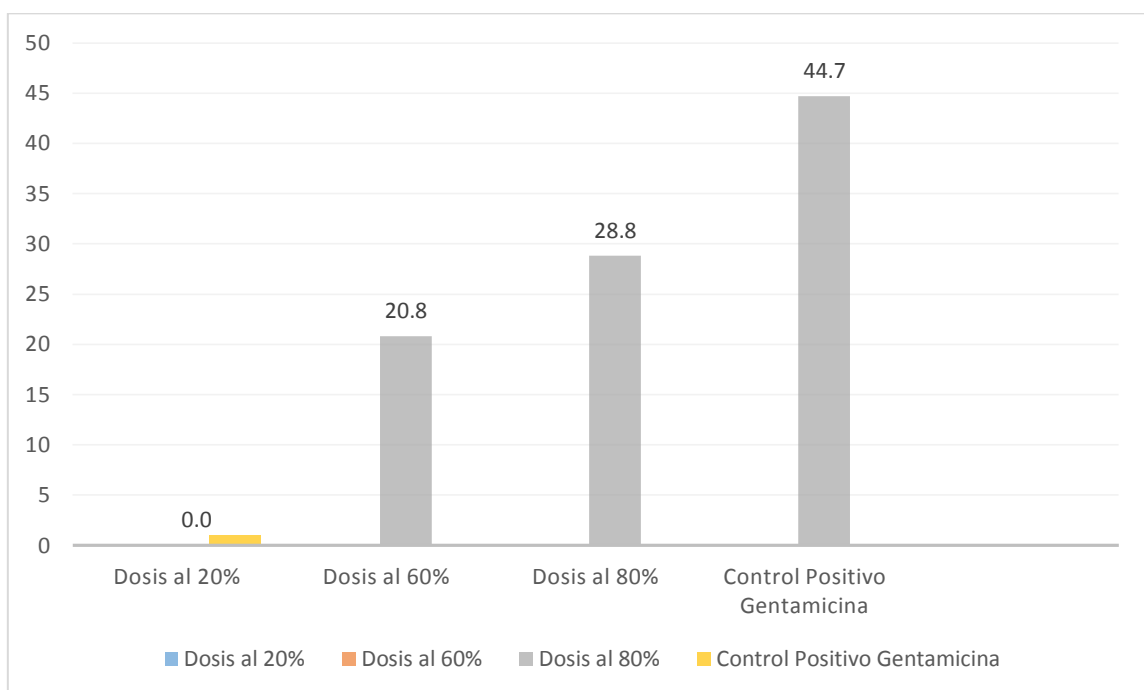


Figura 19. Medidas de halo de inhibición frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

Fuente: Elaboración propia

**En la Figura 19:** Se observa que el extracto de *Schinus molle* L. (Molle) presenta actividad antibacteriana al 80% con un halo de inhibición (28,8mm), al 60% con un halo de inhibición (20.8mm) según la escala de Durafford.

**Tabla 18. Comparaciones múltiples mediante el test de Dunnet para determinar la actividad antimicrobiana del extracto frente a *Pseudomonas aeruginosa***

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	p-valor	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior

Extracto 20% Dimetilsulfóxido	,00000	,13506	1,000	-,3580	,3580
Extracto 60% Dimetilsulfóxido	20,76000*	,13506	,000	20,4020	21,1180
Extracto 80% Dimetilsulfóxido	28,76000*	,13506	,000	28,4020	29,1180
Ciprofloxacino Dimetilsulfóxido	44,68000*	,13506	,000	44,3220	45,0380

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

**La tabla 18:** muestra diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.0001$ ) entre los halos de inhibición de los grupos Extracto 60 y 80 % respecto al control negativo (dimetilsulfóxido).

**Decisión:** La tabla 17 y 18 evidencian que el extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* presenta actividad antibacteriana ( $p < 0.0001$ ) a las concentraciones 60, 75 y 90 % frente a *Staphylococcus aureus* y 60 y 80 % frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Se rechaza la hipótesis nula.

### C. Contrastación de hipótesis específica 3

**H<sub>0</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) no presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 comparado con gentamicina y ciprofloxacino respectivamente.

**H<sub>1</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 comparado con gentamicina y ciprofloxacino respectivamente.

La siguiente tabla describe los datos en porcentaje de cada grupo estudiado al 20%, 60%, 80% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* "molle" comparado con Ciprofloxacino frente a la cepa de *Pseudomona auriginosa*

Tabla 19. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* L. (Molle) comparado con Ciprofloxacino frente a la cepa de *Pseudomona auriginosa*

N° Placas	Dosis al 20 %	Porcentaje	Dosis al 60%	Porcentaje	Dosis al 80 %	Porcentaje
1.0	0.0	0.0	21.0	46.8	28.4	64.3
2.0	0.0	0.0	20.9	47.0	29.0	64.9
3.0	0.0	0.0	20.7	46.8	28.8	63.9
4.0	0.0	0.0	20.4	45.5	28.6	64.1
5.0	0.0	0.0	20.8	46.2	29.0	64.7
<b>Promedio</b>	0.0	0.0	20.8	46.5	28.8	64.4

**En la tabla 19:** Se observa los resultados en porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* L. (Molle) comparado con Ciprofloxacino frente a la cepa de *Pseudomona auriginosa*.

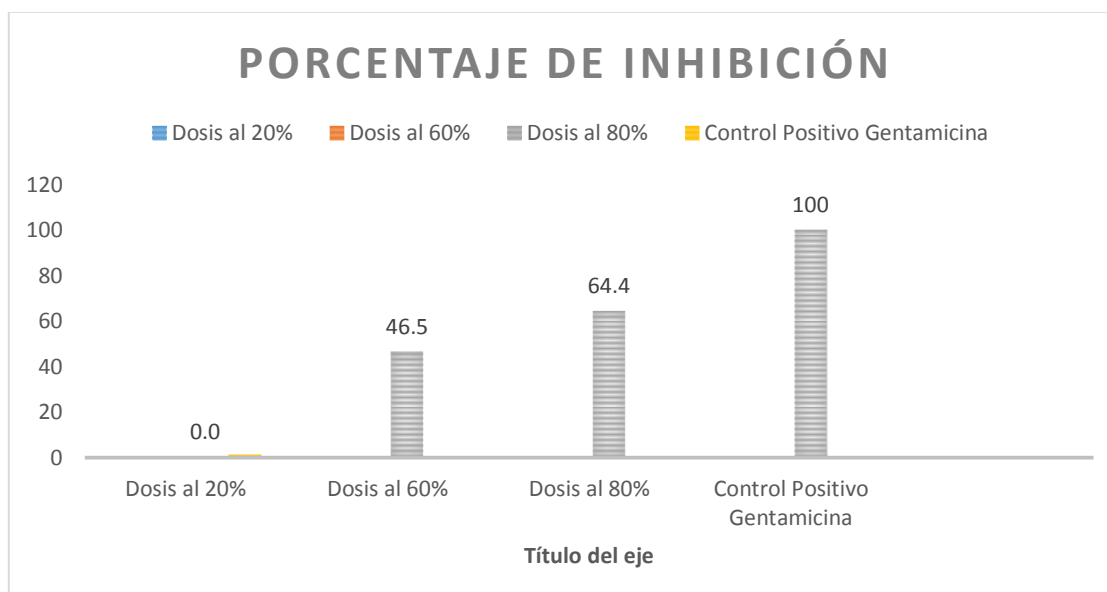


Figura 20. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* L. (Molle) comparado con Gentamicina frente a la cepa de *Pseudomona auriginosa*

Fuente: Elaboración propia

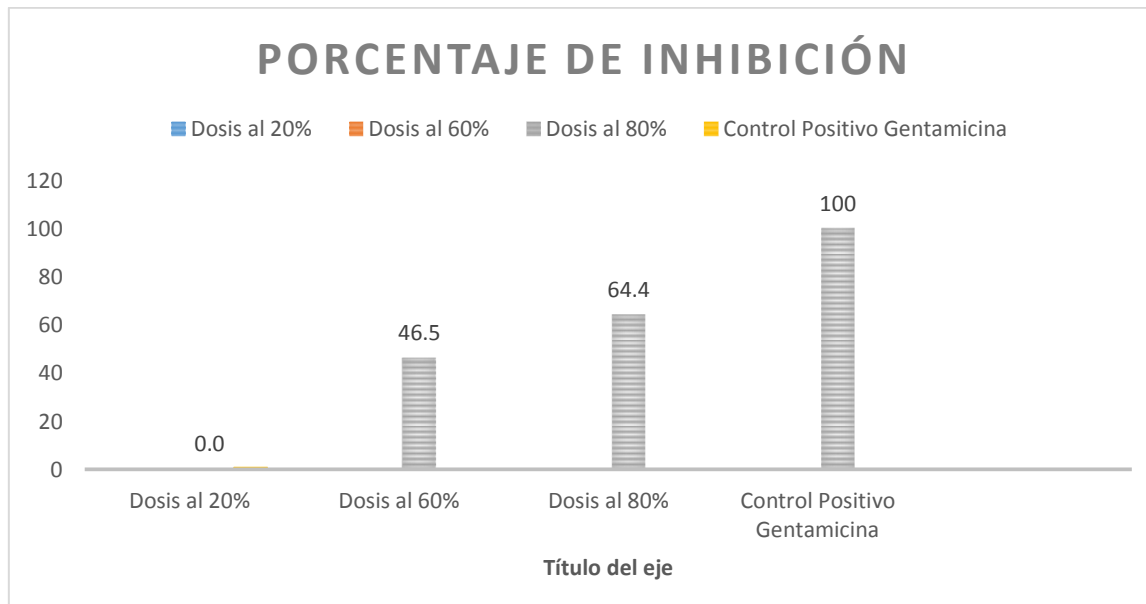
**En la figura 20:** Se muestra que el extracto hidroalcohólico *Schinus molle* L. (Molle) al 80, 60 y 20% al ser comparado con Gentamicina no presentan igual actividad antibacteriana.

La tabla 20 describe los datos en porcentaje de cada grupo estudiado al 60, 75 y 90% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* comparado con Ciprofloxacino frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

**Tabla 20.** Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* L. (Molle) comparado con Ciprofloxacino frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

N° Placas	Dosis al 60 %	Porcentaje	Dosis al 75%	Porcentaje	Dosis al 90 %	Porcentaje
1.0	18.0	39.1	24.0	52.5	32.0	70.2
2.0	18.4	40.4	23.7	52.4	31.4	69.5
3.0	18.2	40.4	23.5	52.2	31.6	68.7
4.0	18.8	41.0	24.0	52.3	31.2	68.1
5.0	18.9	41.8	23.9	52.6	31.8	70.2
<b>Promedio</b>	18.5	40.6	23.8	52.4	31.6	69.3

**En la tabla 20:** Se observa los resultados en porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* L. (Molle) comparado con Ciprofloxacino frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.



**Figura 21.** Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico *Schinus molle* L. (Molle) comparado con Ciprofloxacino frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*

Fuente: Elaboración propia

En la figura 21: Se muestra que el extracto hidroalcohólico *Schinus molle* L. (Molle) al 90%, al 75% y al 60% al ser comparado con Ciprofloxacino no presentan mayor actividad antibacteriana.

**Decisión:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) no presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 comparado con gentamicina y ciprofloxacino respectivamente. Se rechaza la hipótesis alternativa

#### 4.3 Discusión de resultados

Al realizar el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (Molle) evidenció compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, lactonas  $\alpha,\beta$  insaturadas, quinonas y terpenos. Resultados similares encontró **Clemente C, et al. (2017)** En su investigación determinó la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, terpenos y saponinas. (27) Además **Trejo C (2015)** en su estudio Identificó la presencia de taninos, metabolito que posee acción astringente por la que se le atribuye el efecto antidiarreico. (25) De la misma manera **Alba A, et al. (2009)**. En su estudio indica que contiene taninos, alcaloides, flavonoides, terpenos y alcaloides. (20) Así También **Orozco G et al. (2013)**. En su tesis, encontró evidencia de lactonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas, taninos, quinonas, flavonoides además de moderada presencia de de azúcares reductores y alcaloides, por lo tanto es posible hallar diferencias en los resultados por factores que influyen como: la técnica de extracción, tipo de suelo, clima y el lugar de recolección de la muestra. (53)

El ensayo antibacteriano realizado a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle), formulado a concentraciones de 60, 75 y 90 %, mostraron halos de inhibición de 18.5, 23.8 y 31.6 mm ( $p < 0.05$ ) frente a *Staphylococcus aureus* utilizando el método de difusión en pozo, estos resultados obtenidos son similares a la investigación realizada por **Cruz A, et al. (2010)** evidenció 10.33 y 27 mm de halo de inhibición con el extracto alcohólico de las hojas de *Schinus molle* frente a *Staphylococcus aureus*, utilizando la técnica de discos y pozos de difusión respectivamente. (54) Asimismo, otras especies pertenecientes a la misma familia también presentan

actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*. **El-Massry K, et al. (2009)**. En su investigación evidenció actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Schinus terebinthifolius*, con un halo de inhibición de 19 mm, frente a *Staphylococcus aureus* por el método de Kirby-Bauer con discos de difusión. (34) También **Gehrke IT, et al (2013)**. Evidenció la actividad antibacteriana del extracto metanólico de las partes aéreas de *Schinus lentiscifolius* con una Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de 250 µg/ml, además del aislamiento y evidencia de la actividad antibacteriana de los flavonoides quercetina y quecitrina con un MIC de 100 y 200 µg/ml frente a *Staphylococcus aureus* respectivamente. (31)

El ensayo antimicrobiano realizado al extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (Molle), a las concentraciones 60 y 80 % mostraron actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* con halos de inhibición de 20.8 y 28,8 mm. Sin embargo, **Cruz A, et al. (2010)** en su estudio evidenció que el extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle*, proveniente de Boyacá-Colombia, no presenta actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa*, utilizando técnicas de Kirby-Bauer con discos y pozos de difusión. (30) Es probable que la diferencia del ecosistema influya de manera cualitativa y hasta cuantitativamente en la producción de metabolitos secundarios con efecto antibacteriano frente a *Pseudomonas aeruginosa*. (41,55)

En contraste a este resultado dos autores evidenciaron la actividad antibacteriana en especies de la misma familia (*Anacardiaceae*) que *Schinus molle* como **Eloff J (2001)** en su investigación evidenció el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Sclerocarya birrea*, una especie de la familia *Anacardiaceae*, frente a *Pseudomonas aeruginosa* mediante la técnica de autobiografía sobre placas de silicagel (56). También **Martinez et al (2000)** en su investigación evidenció el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus terebinthifolius* con halos de inhibición 12.7, 16.3, 18.0, 19.1, 20.6, 21.5 y 24.3 a concentraciones 1, 5, 15, 30, 40, 60 y 80 % respectivamente, frente a *Pseudomonas aeruginosa* mediante la técnica Kirby-Bauer con pozos de difusión. (57)

El efecto anti *Pseudomonas auriginosa* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* puede ser debido al farnesol, un terpeno de las hojas de *Schinus molle* según **Cugini C et al (2007)**. (58)

El efecto anti *Pseudomonas auriginosa* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* puede ser debido al agatisflavona y quecetina quercetin 3-O-ramnosido, dos flavonoides de las hojas de *Anacardium occidentale* según **Ajileye O et al (2015)**. (59)

El efecto anti *Staphylococcus aureus* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* puede ser debido a sus taninos ya que **Engels C et al (2009)** aisló 3 taninos diferentes a partir de *Mangifera indica*, una especie perteneciente a la misma familia (*Anacardiaceae*), evidenciaron actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*. (60)



## CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 2.5 CONCLUSIONES

- 1 El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) contiene taninos, flavonoides, quinonas, terpenoides.
- 2 El extracto hidroalcohólico de las hojas *Schinus molle* L. (Molle) en concentraciones 60, 75 y 90 % presenta 18.5, 23.8 y 31.6 mm de actividad antibacteriana frente a *Stphylococcus aureus* y a concentraciones 60 y 80 % presenta actividad antibacteriana de 20. 8 y 28,8 mm frente a. *Pseudomona auriginosa*.
- 3 El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) a 80 y 90 % presentan menor actividad antibacteriana, con halos de 28.8 y 31.6 mm, *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 comparado con 44.7 y 45.6 mm de ciprofloxacino y gentamicina respectivamente.

### 2.6 RECOMENDACIONES

- 1 Se recomienda realizar investigaciones del fruto de *Schinus molle* L. (Molle) tener conocimiento de sus metabolitos secundarios y sus beneficios.
- 2 Se sugiere realizar la cromatografía de gases con divisor de flujo para la separación y cuantificación de los metabolitos secundarios de la planta *Shinus molle* del distrito de Huasahasi distrito de Tarma.
- 3 Se recomienda realizar un fitofármaco a base del extracto de *Schinus molle* L. (Molle) determinar el efecto antibacteriano para la piel y mucosas.
- 4 Se recomienda estudios de hipersensibilidad y toxicidad para evitar reacciones adversas en la población.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología medica. 6<sup>a</sup> ed. Delgado-Iribarren A, editor. Madrid: Elsevier; 2009. 947 p.
2. Page CP, Curtis MJ, Sutter MC, Walker MJ, Hoffman BB. Farmacología integrada. 1<sup>a</sup> ed. Madrid: Elsevier; 1998. 616 p.
3. Organización Mundial de la Salud. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgente nuevos antibióticos [Internet]. 2017. 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>
4. Laupland KB, Lyytikäinen O, Søgaard M, Kennedy KJ, Knudsen JD, Ostergaard C, et al. The changing epidemiology of Staphylococcus aureus bloodstream infection: A multinational population-based surveillance study. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2013;19(5):465–71. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03903.x>
5. WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. 1<sup>a</sup> ed. France: WHO; 2014. 235 p.
6. McMullan BJ, Bowen A, Blyth CC, Van Hal S, Korman TM, Buttery J, et al. Epidemiology and mortality of staphylococcus aureus Bacteremia in Australian and New Zealand children. JAMA Pediatr. 2016;170(10):979–86.
7. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2015;28(3):603–61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26016486>  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4451395>
8. Alvarado-Gamarra G, Alcalá-Marcos KM, Abarca-Alfaro DM, Bao-Castro V. Microbiological and therapeutic characteristics of confirmed neonatal sepsis at a hospital in lima, peru. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2016;33(1):74–82. Disponible en:

<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2016.331.2010>

9. Fernandez-Mogollon J, Tello-Vera S, Pizarro-Chima F. Perfil microbiológico de un hospital del seguro social nivel iii. *Rev cuerpo med* [Internet]. 2016;9(1):6–13. Disponible en: [www.cmhnaaa.org.pe/ojs/index.php/rcmhnaaa/article/download/141/121/](http://www.cmhnaaa.org.pe/ojs/index.php/rcmhnaaa/article/download/141/121/)
10. Pechère J-C, Köhler T. Patterns and modes of beta-lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 1999;5(Suppl 1):S15–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1998.tb00051.x>
11. Hidalgo LF, Antigoni J, Samalvides F. Prevalencia de infecciones hospitalarias en un hospital peruano de nivel IV en el año 2008. *Rev Medica Hered* [Internet]. 2011;22(2):76–81. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2011000200006&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2011000200006&lng=es&nrm=iso)
12. Blanc DS, Petignat C, Janin B, Bille J, Francioli P. Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: A prospective epidemiologic study. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 1998;4(5):242–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1998.tb00051.x>
13. Gang RK, Bang RL, Sanyal SC, Mokaddas E, Lari AR. *Pseudomonas aeruginosa* septicaemia in burns. *Burns* [Internet]. 1999;25(7):611–6. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0305-4179\(99\)00042-X](https://doi.org/10.1016/S0305-4179(99)00042-X)
14. Tumbrello M, Repetto E, Trecarichi EM, Bernardini C, Depascale G, Rossi M, et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: risk factors and mortality. *Epidemiol Infect*. 2011;139(11):1740–9.
15. Orellana LR. Mortalidad por bacteremia causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos en un hospital de Lima Perú 2010-2017. Universidad nacional federico villarreal; 2018.
16. Petrovska BB. Historical review of medicinal plant's usage. *Pharmacogn Rev*. 2012;11(6):1–5.

17. Houghton PJ. The role of plants in traditional medicine and current therapy. *J Altern Complement Med* [Internet]. 1995;1(2):131–43. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/acm.1995.1.131>
18. Kenea O, Tekie H. Ethnobotanical survey of plants traditionally used for malaria prevention and treatment in indigenous villages of Tepi Town South West Ethiopia. *J Biol Agric Healthc* [Internet]. 2015;5(11):1–9. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/d320/eb78296b34a582e1be21c04ebc2040676a00.pdf>
19. Quiroga R, Meneses L, Bussmann RW. Medicinal ethnobotany in Huacareta. *J Ethnobiol Ethnomed* [Internet]. 2012;8(29):1–14. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1746-4269-8-29>
20. Alba A, Bonilla P, Arroyo J. Actividad cicatrizante de una pomada con aceite esencial de *Schinus molle* L. “Molle” en ganado vacuno con heridas infectadas y en ratones. *Cienc Invest* [Internet]. 2009;12(1):29–36. Disponible en: [http://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/NMSM\\_545840519b00a0908de3c67cf0f8caa7](http://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/NMSM_545840519b00a0908de3c67cf0f8caa7)
21. Hernández T, Canales M, Avila JG, Duran A, Caballero J, Romo de Vivar A, et al. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2003;88(2–3):181–8. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00213-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00213-7)
22. Van Wyk BE, de Wet H, Van Heerden FR. An ethnobotanical survey of medicinal plants in the southeastern Karoo, South Africa. *South African J Bot* [Internet]. 2008;74(4):696–704. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2008.05.001>
23. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. 1ª ed. Ginebra: OMS; 2005.
24. Cordell G a. Phytochemistry and traditional medicine - The revolution continues. *Phytochem Lett* [Internet]. 2015;10(4):xxviii–xl. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2014.06.002>

25. Trejo C. Efecto antidiarreico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (molle) [Internet]. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2015. Disponible en:  
[http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1164/TesisFar428\\_Tre.pdf?sequence=](http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1164/TesisFar428_Tre.pdf?sequence=)
26. Gómez EM. Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Schinus molle* (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Internet]. Universidad César Vallejo; 2017. Disponible en:  
<http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/11048>
27. Clemente CE, Paucar R. Actividad Antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* L. “Molle” [Internet]. Universidad Wiener; 2017. Disponible en:  
<http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/530>
28. Arias G. Determinación química bromatológica y actividad antimicrobiana de *Spondias mombim* L (Ubo). *Cienc Invest* [Internet]. 2000;3(2):59–62. Disponible en:  
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/5324>
29. Herrera NP. Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de *Schinus molle* L. “molle” sobre la viabilidad de *Streptococcus beta-hemolítico* “in vitro” [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2013. Disponible en:  
<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3467>
30. Cruz-carrillo A, Rodríguez N, Rodríguez CE. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. *Rev UDCA Actual Divulg Científica* [Internet]. 2010;13(2):117–24. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-42262010000200014&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262010000200014&lng=en&nrm=iso)
31. Gehrke IT, Neto AT, Pedroso M, Mostardeiro CP, Da Cruz IBM, Silva UF, et al. Antimicrobial activity of *Schinus lentiscifolius* (Anacardiaceae). *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2013;148(2):486–91. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.04.043>

32. Rhouma A, Ben Daoud H, Ghanmi S, ben Salah H, Romdhane M, Demak M. Antimicrobial activities of leaf extracts of Pistacia and Schinus species against some plant pathogenic fungi and bacteria. *J Plant Pathol*. 2009;91(2):339–45.
33. Degáspari CH, Waszczynskyj N, Prado MRM. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Ciência e Agrotecnologia* [Internet]. 2005;29(3):617–22. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-70542005000300016&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542005000300016&lng=en&nrm=iso)
34. El-Massrri KF, El-Ghorab AH, Shaaban HA, Shibamoto T. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2009;57(12):5265–70. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf900638c>
35. Kramer FL. The pepper tree, *Schinus molle* L. *Econ Bot* [Internet]. 1957;11(4):322–6. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/BF02903811>
36. Silva-Junios EF, Aquino PG, Santos-Junior PF, Nascimento IJ, Gomes EA, Silva AL, et al. Phytochemical compounds and pharmacological properties from *Schinus molle* Linnaeus and *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *J Chem Pharm Res* [Internet]. 2015;7(12):389–93. Disponible en: <http://www.jocpr.com/articles/phytochemical-compounds-and-pharmacological-properties-from-schinus-molle-linnaeus-and-schinus-terebinthifolius-raddiana.pdf>
37. Yueqi Z, Recio MC, Giner RM, Cérda-Nicolas M, Rios J. Isolation of Two Triterpenoids and a Biflavanone with Anti-Inflammatory Activity from *Schinus molle* Fruits. *Planta Med* [Internet]. 2003;69(10):893–8. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1055/s-2003-45096>
38. Marzouk MS, Moharram FA, Haggag EG, Ibrahim MT, Badary OA. Antioxidant flavonol glycosides from *Schinus molle*. *Phyther Res* [Internet]. 2006;20(3):200–5. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ptr.1834>
39. De-la-Cruz H, Vilcapoma G, Zevallos PA. Ethnobotanical study of

- medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Peru. J Ethnopharmacol [Internet]. 2007;111(2):284–94. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.018>
40. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3ª ed. Lima: Pontificia universidad católica del Perú; 2016. 287 p.
  41. Kuklinski C. Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Madrid: Omega; 1999. 515 p.
  42. Dewick PM. Medicinal natural product: A biosynthetic approach. 3ª ed. UK: John Wiley and Sons; 2009. 546 p.
  43. Bruneton J. Farmacognosia y fitoquímica de plantas medicinales. 2ª ed. Mexico: Acribia; 2001. 1120 p.
  44. Randa Hial D, Laurence L. Manual de farmacología y terapéutica. 2 edición. California; 2013. 948 p.
  45. Katzung BG, Master SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11ª ed. Mexico df: Mc graw-hill; 2010. 1218 p.
  46. Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. Biochemistry [Internet]. 2014;53(10):1565–74. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/bi5000564>
  47. Alicia L, Lucrecia M, Victoria V. Manual de Farmacología. Mexico: Mc Graw Hill; 2010. 312 p.
  48. Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of Pseudomonas aeruginosa infections. Drugs. 2007;67(3):351–68.
  49. Díaz Tello J, Ramírez Ponce R. Microbiología clínica básica. Primera ed. 2017. 528 p.
  50. Durst DH, Gokel GW. Química orgánica experimental. Casellas M, Granado R, editores. Barcelona: reverte; 1985.
  51. Hernandez R. Metodología de investigación. 2010. 656 p.
  52. Sacsquispe Contreras RE, Velásquez Pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el

- método de disco difusión. Lima: Instituto nacional de salud; 2002. 68 p.
53. Orozco M. Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de Molle (*Schinus molle*), Cola de Caballo (*Equisetum arvense* L.), Linaza (*Linum usitatissimum* L.) en ratones (*Mus musculus*) [Internet]. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo; 2013. Disponible en:  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2585>
  54. Moncada FM. Determinación de la composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Schinus molle* L. (molle) de arquipa y moquegua contra *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* [Internet]. Universidad Católica de Santa María; 2013. Disponible en:  
<http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/4316/42.0103.IB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  55. Cañigüeral S. Medicamentos a base de plantas: El reto de la calidad y la Farmacopea como herramienta para alcanzarla. *Rev Fitoter* [Internet]. 2013;13(2):101–22. Disponible en:  
[http://www.fitoterapia.net/revista/sumarios/index.html?num\\_volumen=34&secc\\_volumen=5963](http://www.fitoterapia.net/revista/sumarios/index.html?num_volumen=34&secc_volumen=5963)
  56. Eloff JN. Antibacterial activity of *Marula* (*Sclerocarya birrea* (a rich) hochst. subsp. *caffra* (sond.) kokwaro) (*Anacardiaceae*) bark and leaves. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2001;76(3):305–8. Disponible en:  
[https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00260-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00260-4)
  57. Martínez MJ, López M, Morejón Z, Rubalcaba Y. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80 % de *Schinus terebinthifolius raddi* (copal). *Rev Cuba Plant Med* [Internet]. 2000;5(1):23–5. Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962000000100006&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962000000100006&lng=es&nrm=iso)
  58. Cugini C, Calfee MW, Farrow JM, Morales DK, Pesci EC, Hogan DA. Farnesol, a common sesquiterpene, inhibits PQS production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* [Internet]. 2007;65(4):896–906. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05840.x>







59. Ajileye OO, Obuotor EM, Akinkunmi EO, Aderogba MA. Isolation and characterization of antioxidant and antimicrobial compounds from *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) leaf extract. *J King Saud Univ - Sci* [Internet]. 2015;27(3):244–52. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2014.12.004>
60. Engels C, Knödler M, Zhao YY, Carle R, Gänzle MG, Schieber A. Antimicrobial activity of gallotannins isolated from mango (*Mangifera indica* L.) kernels. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2009;57(17):7712–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf901621m>

# **ANEXOS**



<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027?</p> <p>3.¿Cómo será la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) comparado con gentamicina y ciprofloxacino?</p>	<p>ATCC 6538 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.</p> <p>3.Comparar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) frente a gentamicina y ciprofloxacino.</p>	<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 a diferentes concentraciones</p> <p>3.El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 comparado con gentamicina y Ciprofloxacino</p>				
--	---	---	--	--	--	--

## ANEXO 2: Certificado de análisis de *Pseudomonas aeruginosa*

	
<b>Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release</b>	
<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Catalog Number: 0484 Lot Number: 484-899 Reference Number: ATCC® 9027™** Purity: Pure Passage from Reference: 3 Mean Assay Value (MAV): 62 CFU per 0.1 ml	<b>Expiration Date:</b> 2019/8/31 <b>Release Information:</b> Quality Control Technologist: Beth M Zenzen Release Date: 2017/8/10
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Large, flat, circular to irregular shaped, gray with silver sheen. A second colony type may also be present as small, round, shiny colonies. <b>Microscopic Features:</b> Straight or slightly curved gram negative rod.	<b>Medium:</b> SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): positive (1) Motility B Medium: positive Pseudomonas P Agar: positive (blue-green color diffusing into the agar) Growth at 42 C: positive   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
	<small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>
TESTING CERT #2655.01	
<small>© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303</small>	
<small>Page 1 of 1</small>	<small>DOC.286</small>

## ANEXO 3: Certificado de análisis de *Staphylococcus aureus*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0485 Lot Number: 485-577 Reference Number: ATCC® 6538™* Purity: Pure Passage from Reference: 3 (7) Mean Assay Value (MAV): 26 CFU per 0.1 ml	<b>Expiration Date:</b> 2019/9/30 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Cassandra L. Hall <b>Release Date:</b> 2017/10/20
---	---

<b>Macroscopic Features:</b> Medium to large, convex, circular, glistening, smooth, creamy, opaque, beta hemolytic - both light gold and darker gold colonies may be present.	<b>Performance</b> <b>Medium:</b> SBAP
<b>Microscopic Features:</b> Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters.	<b>Method:</b> Gram Stain (1)

**ID System:** MALDI-TOF  
 See attached ID System results document.

**Other Features/ Challenges: Results**  
 (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive  
 (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive  
 (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative

*Amanda Kuperus*  
 Amanda Kuperus  
 Quality Control Manager  
 AUTHORIZED SIGNATURE

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

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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



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

(7) The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as methods, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.

**ANEXO 4: Constancia de identificación taxonómica**



**CONSTANCIA N° 435-USM-2018**

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 (tallo con hojas y botones florales) recibida de **Katti Rocío Calderón Córdor y Estelita Cristobal Reyna**, estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Schinus molle* L.**, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ROSIDAE**

**ORDEN: SAPINDALES**

**FAMILIA: ANACARDIACEAE**

**GENERO: *Schinus***

**ESPECIE: *Schinus molle* L.**

Nombre vulgar: "Molle"  
 Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago.

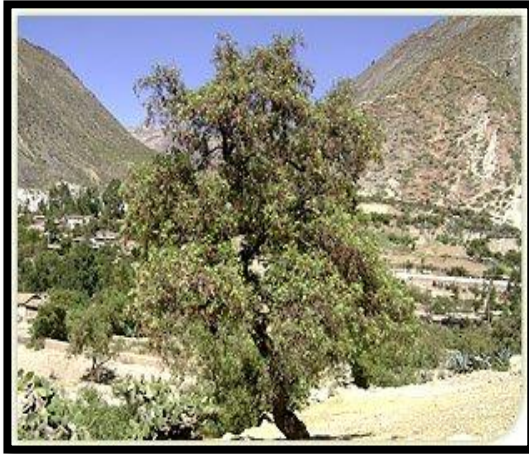
Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estimen conveniente.

Lima, 23 de noviembre de 2018



  
**Mg. Asunción Cano Echevarría**  
**JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)**

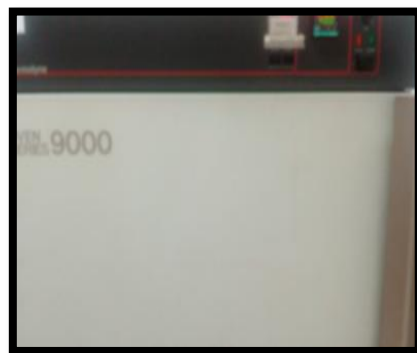
## ANEXO 5: Materia prima



**Figura 22.** Recolección de las Hojas de *Schinus molle* L. (Molle).



**Figura 23.** Lavado pesado de las hojas se *Schinus molle* L. (Molle)



**Figura 24.** Secado de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) en la estufa a 40 °C.



## ANEXO 6: Obtención del extracto seco



**Figura 25.** Peso de las hojas secas de *Schinus molle* L. (Molle) y macerado.



**Figura 26.** Filtrado del macerado de *Schinus molle* L. (Molle), concentración de la muestra en Rotavapor y estufa.



**Figura 27.** Pesado de la extracto de *Schinus molle* L. (Molle).

## ANEXO 7: Screening fitoquímico



**Figura 28.** Prueba de solubilidad del extracto seco de *Schinus molle* L. (Molle).



**Figura 29.** Reactivos para la identificación de metabolitos secundarios.

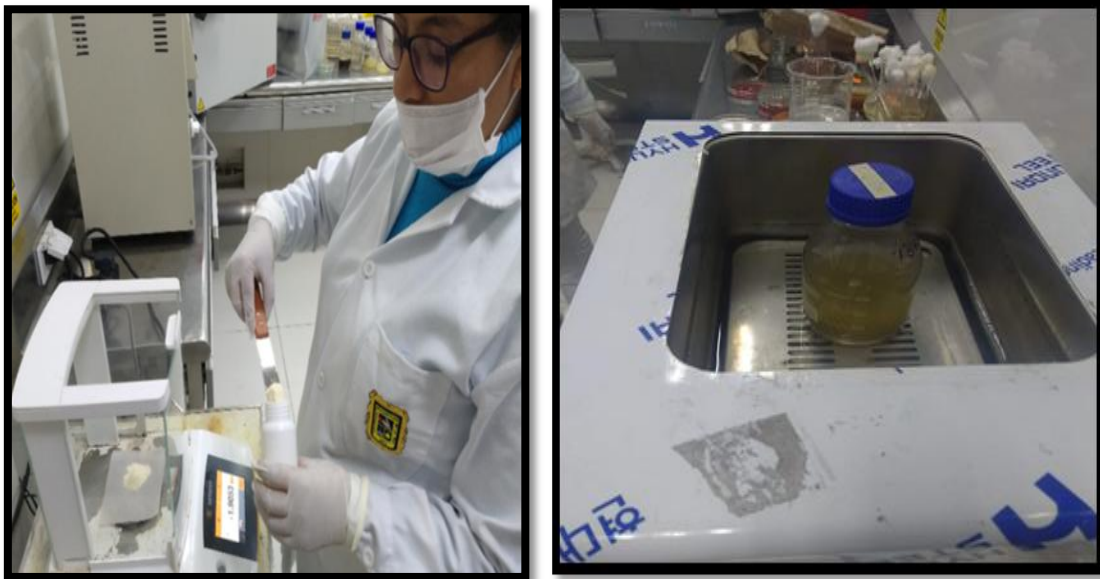


**Figura 30:** identificación de metabolitos secundarios *Schinus molle* L. (Molle).

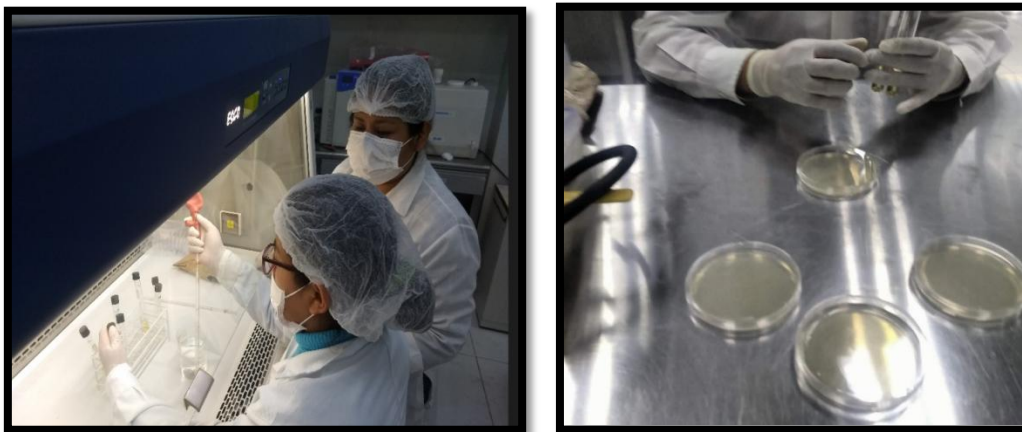


**Figura 31:** resultado del tamizaje fitoquímico.

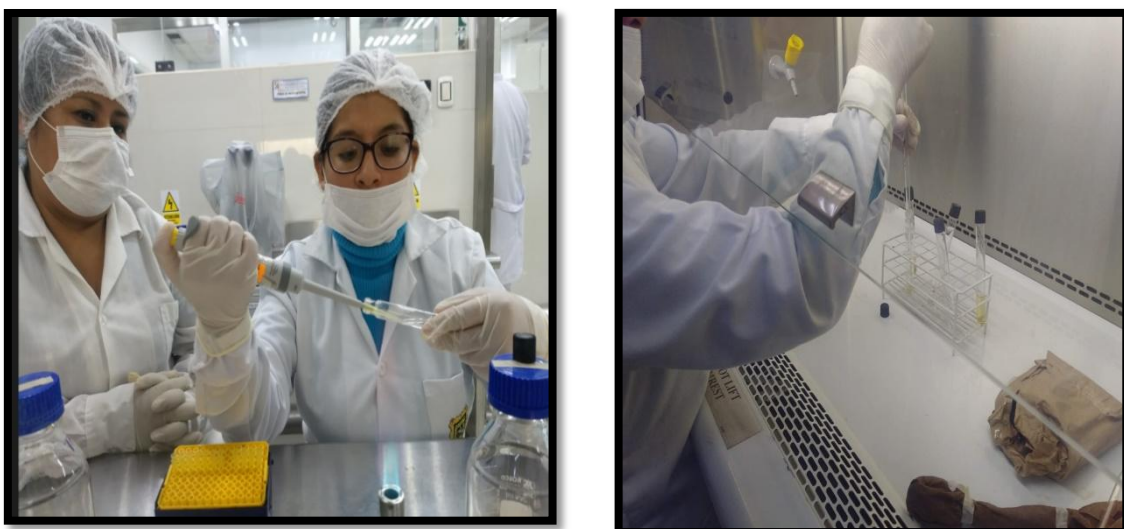
## ANEXO 9: Análisis microbiológico.

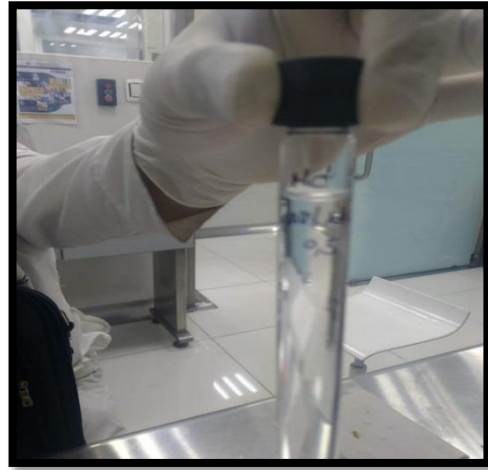


**Figura 32:** Preparación del Medio de Cultivo “Agar Soya Trypticasa”



**Figura 33:** “Agar Soya Trypticasa” en las placas Petri.





**Figura 34:** Estandarización de las cepas



**Figura 35:** Se hacen las excavaciones con el Sacabocado estéril

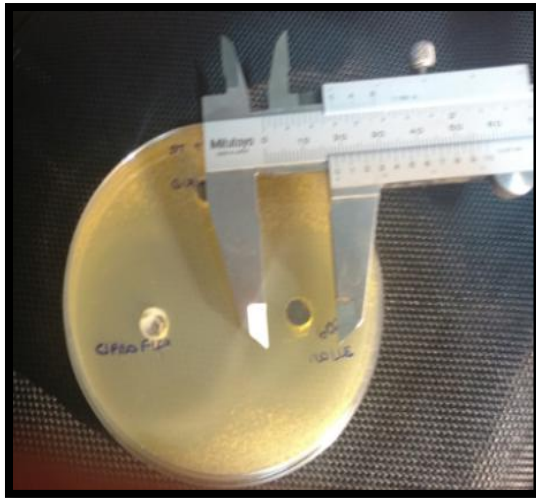


**Figura 35:** sembrado de la bacteria *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

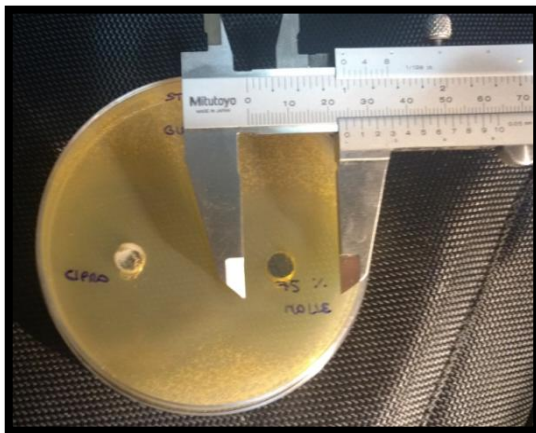


**Figura 36:** Se incuban las muestras por un tiempo de 24 horas a 37° C.

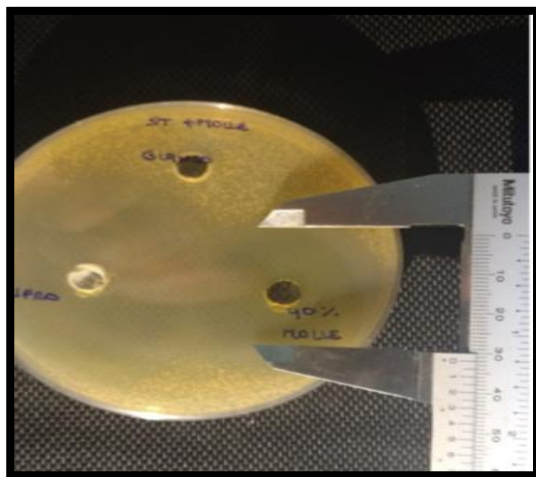
**ANEXO 10 Resultados.**



**60 %**



**75%**

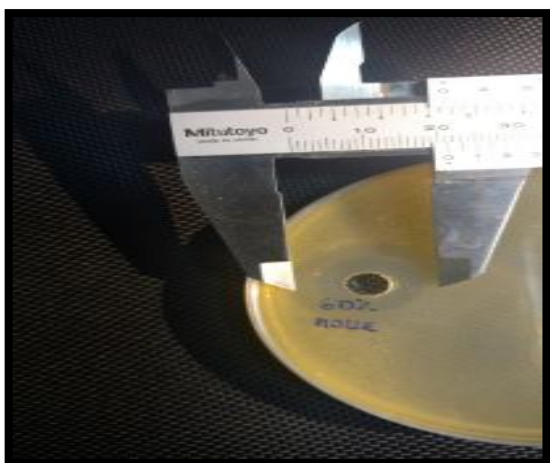


**90%**

Figura 37: Lecturas para *Staphylococcus aureus* 60%, 75% y 90%



20%



60%



80%

Figura 38: Lecturas para *Pseudomonas aeruginosa*, 20% 60 % y 80 %



Anexo 11: Instrumento de recolección de datos, ficha de observación ad-hoc



FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE SCREENING  
FITOQUIMICO

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

**“Actividad Antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* estudio *in vitro*”**

Metabolitos	Reactivo de Identificacion	Resultado
Azucares	Molish	
Almidon	Lugol	
Cetonas	2,4 DNPH	
Alcaloides	Wagner	
	Dragendorff	
	Reineckato	
	Shinoda	
Compuestos fenolicos y Flavonoides	Cloruro Ferrico	
	Gelatina al 1%	
	Reaccion de Bortranger	
Aminoacidos	Ninhidrina	
Terpenos	Liebermann-Burchard	

Leyenda:

- La coloración o precipitado no se evidencia (-)
- La coloración o precipitado se evidencia (+)

- La coloración o precipitado se evidencia moderadamente (++)
- La coloración o precipitado se evidencia notablemente (+++)



**FICHA DE OBSERVACION DEL ENSAYO MICROBIOLÓGICO**  
**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA**

**“Actividad Antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* estudio *in vitro*”**

<b>ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A <i>Staphylococcus aureus</i> POR EL METODO DE KIRBY BAUER</b>					
	<b>GRUPO 1 EXTRACTO AL 60%</b>	<b>GRUPO 2 EXTRACTO AL 75%</b>	<b>GRUPO 3 EXTRACTO AL 90%</b>	<b>GRUPO 4 CIPROFLOXACINO (+)</b>	<b>GRUPO 5 DMSO (-)</b>
<b>Nº DE PLACA</b>					
<b>PLACA 1</b>					
<b>PLACA 2</b>					
<b>PLACA 3</b>					
<b>PLACA 4</b>					
<b>PLACA 5</b>					

<b>ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A <i>Pseudomonas aeruginosa</i> POR EL METODO DE KIRBY BAUER</b>					
	<b>GRUPO 1 EXTRACTO AL 20%</b>	<b>GRUPO 2 EXTRACTO AL 60%</b>	<b>GRUPO 3 EXTRACTO AL 80%</b>	<b>GRUPO 4 GENTAMICINA (+)</b>	<b>GRUPO 5 DMSO (-)</b>
<b>Nº DE PLACA</b>					
<b>PLACA 1</b>					
<b>PLACA 2</b>					
<b>PLACA 3</b>					
<b>PLACA 4</b>					
<b>PLACA 5</b>					

**LEYENDA:**

**Se midió el diámetro de los halos de inhibición con un vernier y los resultados fueron interpretados según la escala de Duraffourd.**

- **Nula (-) diámetro inferior a 8 mm.**
- **Sensibilidad límite (sensible +) diámetro entre 8 a 14 mm.**
- **Medio (muy sensible ++) diámetro entre 14 y 20 mm.**
- **Sumamente sensible (+++) diámetro superior a 20 mm.**



FICHA DE OBSERVACION DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD  
UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

“Actividad Antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* estudio *in vitro*”

	SOLVENTES	IDENTIFICACION
Tubo (1) 0,1 g	Etanol 96 <sup>0</sup> (5ml)	
Tubo (2) 0,1 g	Metanol (5ml)	
Tubo (3) 0,1 g	Cloroformo (5ml)	
Tubo (4) 0,1 g	Agua (5ml)	
Tubo (5) 0,1 g	Isopropanol (5ml)	
Tubo (6) 0,1 g	Eter (5ml)	
Tubo (7) 0,1 g	Acetona (5ml)	
Tubo (8) 0,1 g	Benceno (5ml)	

**Leyenda:**

- La solubilidad no se visualiza (-)
- La solubilidad en menor grado (+)
- La solubilidad es moderada (++)
- La solubilidad es mayor (+++)

**ANEXO 12: Fichas de validación del instrumento de la recolección de datos**



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

Ficha de validación del instrumento de la recolección de datos

Título de la tesis: "Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* (molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* estudio in vitro"

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

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

Puntaje final: 100%

Aprobado  20.

Desaprobado

(Puntaje Mayor igual a 20)

(Puntaje menor a 20)

Observaciones:

LISTO PARA SU APLICACIÓN

Docente responsable:

OF. PUNEDS POR MARCO



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

Ficha de validación del instrumento de la recolección de datos

Título de la tesis: "Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* (molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* estudio in vitro"

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

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

Puntaje final: 100%

Aprobado  20 Desaprobado

(Puntaje Mayor igual a 20) (Puntaje menor a 20)

Observaciones: Aplicable

Docente responsable: DR. Hector Vilchez Caceres  
08970



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

Ficha de validación del instrumento de la recolección de datos

Título de la tesis: "Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* (molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* estudio in vitro"

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

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

Puntaje final: 100%

Aprobado

Desaprobado

(Puntaje Mayor igual a 20)

(Puntaje menor a 20)

Observaciones:

Aplicable

Docente responsable:

[Firma]  
Mg. Q.F. Oscar Flores López.  
↳ 394