



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS Y TALLOS DE *Desmodium  
molliculum* (Kunth) DC. (MANAYUPA) FRENTE A *Escherichia coli*  
ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

AUTORES

BACH. ÁLVAREZ CAPCHA, OLIVIA MABEL

BACH. CARPIO BAZÁN, MARIBEL

ASESOR

MG. INOCENTE CAMONES, MIGUEL ANGEL

LIMA – PERÚ

2020

## DEDICATORIA

A mi madre Luovina Capcha Padilla porque gracias a su entrega y sacrificio aprendí que nada es fácil en la vida, que tengo que esforzarme para conseguir mis metas, a mi hermana Karina, a mis sobrinos Marvin y Filippa y a mi esposo Martin por estar siempre a mi lado apoyándome incondicionalmente. Mis seres queridos son los que hacen que cada día valga la pena siendo el motor que me impulsa a seguir adelante avanzando en la vida.

Olivia Mabel Álvarez Capcha

En primer lugar, quiero darle gracias a Dios porque sin él nada sería posible, a mi madre y hermana que con su ejemplo de fortaleza me enseñaron que a pesar de las adversidades hay que seguir adelante y a mis hijos que son los que me impulsan a seguir adelante en la vida.

Maribel          Carpio

Bazán

## **AGRADECIMIENTO**

A nuestros familiares y a todas las personas que de una u otra manera hicieron posible la realización de este trabajo brindándonos su apoyo emocional, moral y material incondicionalmente para el logro el objetivo anhelado.

A la Profesora Vania Mallqui Brito por sus sabios y acertados consejos y en especial a nuestro asesor Mg Miguel Inocente por su colaboración, apoyo, paciencia y persistencia para la culminación de este trabajo.

## Índice General

	<b>Páginas</b>
Resumen.....	viii
Abstract.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
III. RESULTADOS.....	13
IV. DISCUSIÓN.....	15
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
ANEXO.....	20

## Índice de Tablas

Tabla N° 1 Solubilidades del extracto hidroalcohólico disecado.....	12
Tabla N° 2 Tamisaje fitoquímico.....	12
Tabla N° 3 Resultado del análisis in vitro por el método Kirby Bauer.....	13

## Índice de Figuras

Fig. 01: Estructura de <i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC.....	4
--	---

## Índice de Anexos

<b>Anexo A.</b> Operacionalización de la variable	25
<b>Anexo B.</b> Clasificación taxonómica	27
<b>Anexo C.</b> Preparación del Extracto hidroalcohólico de Manayupa	28
<b>Anexo D.</b> Evidencia del trabajo de campo (Fotos)	29

## RESUMEN

**Objetivo:** Identificar los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa) y determinar a qué concentración presento actividad antibacteriana el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa) sobre cepas bacterianas tales como *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Método:** Se realizó el método de maceración de 8 a 10 días para la obtención del extracto hidroalcohólico, para posteriormente realizar la marcha fitoquímica y se evaluó la actividad antibacteriana a diferentes concentraciones utilizando el método de difusión Kirby Bauer, las cepas que se utilizaron son *Escherichia Coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Resultado:** El extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. Manayupa, presentó actividad antibacteriana para *Escherichia Coli* ATCC 25922 en las concentraciones de 75 y 50%, con halos de inhibición de 7.0mm en ambos casos y para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 no presentó actividad antibacteriana en ninguna de las concentraciones.

**Conclusiones:** *Escherichia Coli* es sensible a los compuestos del extracto hidroalcohólico de manayupa.

**Palabras claves:** *Desmodium molliculum*, flavonoides, taninos, actividad antibacteriana.



## ABSTRACT

**Objective:** Was to identify the metabolites present in the hydroalcoholic extract of the leaves and stems of *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa) and determine at what concentration the hydroalcoholic extract of leaves and stems of *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa) was present at antibacterial activity on typified bacteria.

**Methods:** The maceration method was carried out for 8 to 10 days to obtain the hydroalcoholic extract, to be followed by the phytochemical screening of the antibacterial activity and evaluate different concentrations using the Kirby Bauer diffusion method, the strains that was used were *Escherichia. Coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Results:** The hydroalcoholic extract of the leaves and stems of *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. Manayupa presented antibacterial activity for *Escherichia Coli* ATCC 25922 in concentrations of 75 and 50%, with inhibition halos of 7.0mm in both cases and for *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 it did not present antibacterial activity in any of the concentrations.

**Conclusions:** *Escherichia Coli* is sensitive to compounds in the hydroalcoholic extract of manayupa.

**Keywords:** *Desmodium molliculum*, flavonoides, taninos, antibacterial activity.

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones por bacterias son de fácil contagio y muy común. Las enfermedades que producen son muy diversas, van desde lesiones cutáneas (heridas quirúrgicas), infecciones urinarias hasta meningitis que pueden causar la muerte. La problemática no depende de la higiene y se puede presentar en cualquier ser humano sin tener en cuenta edad, sexo o condición social<sup>1</sup>.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la cepa bacteriana de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga es una bacteria que puede causar enfermedades graves o incluso hasta la muerte cuando da lugar al síndrome hemolítico urémico, en especial en niños y ancianos. El 10% de los pacientes podrán adquirir el síndrome hemolítico urémico con una letalidad del 3-5%, el 25% de los pacientes pueden presentar complicaciones neurológicas como convulsiones, accidente cerebro vascular e incluso llegar al coma<sup>2</sup>.

Según la Organización Panamericana de la Salud nos dice que de los afectados por *Staphylococcus aureus* un 0.03% de la población general presentara mortalidad y un 4% en niños y ancianos; siendo el 10 % necesitado de asistencia médica<sup>3</sup>.

En el Perú, los casos de infección a causa de la cepa bacteriana de *Escherichia coli* son casos de poca incidencia, como por ejemplo en la clínica Jesús del Norte de la provincia y departamento de Lima, de enero del 2016 a diciembre del 2017 se registraron 1455 pacientes para control prenatal, 108 tuvieron infección de las vías urinarias, dando positivo al urocultivo para *E. coli*, 70 casos fueron resistentes a ampicilina, ciprofloxacino y norfloxacino<sup>4</sup>.

En tres hospitales de Lima se aislaron 276 cepas de *Staphylococcus aureus*, de los cuales 170 fueron resistentes a metilicina, estas cepas provenían de hemocultivos, heridas en la piel y tejidos blandos de pacientes externos y pacientes hospitalizados<sup>5</sup>.

Desde tiempos muy remotos la fitoterapia ha sido utilizada por el hombre con fines curativos y también para prevenir enfermedades<sup>6</sup>. La OMS, reconoce que existen pruebas científicas e empíricas que respaldan los beneficios del uso de

especies vegetales con propiedades medicinales para diversas afecciones crónicas o leves<sup>6</sup>.

En el Perú contamos con una gran diversidad de recursos naturales con propiedades medicinales que han suscitado la atención de la sociedad e industrias de diferentes partes del mundo, en virtud de estas características curativas, los vegetales oriundos de nuestras regiones andino-amazónica representan un alto consumo a nivel mundial en la industria farmacológica. En la elaboración de diversos productos medicinales, se utilizan diferentes partes de éstas como hojas, tallos, raíces, entre otros. Existen investigaciones que demuestran que los extractos vegetales se presentan como posible tratamiento antibacteriano<sup>7</sup>.

Las bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* son bacterias oportunistas que pueden afectar seriamente la salud, debiendo ser tratadas con urgencia para evitar complicaciones mayores y disminuir posibles contagios, siendo un problema de salud latente y difícil de erradicar por la resistencia a antibióticos que consumen<sup>8</sup>.

Los estudios de manayupa frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* obtuvieron resultados poco favorables posiblemente por muestras obtenidas de los departamentos Lambayeque, Junín y Trujillo; sin embargo; aún no se ha determinado la actividad antibacteriana con muestras del departamento de Huánuco y se propone el estudio debido a que las zonas de cultivo son ricas en nutrientes lo cual favorece el contenido de metabolitos secundarios<sup>9</sup>.

Según la situación problemática planteada se formula la siguiente pregunta:

- ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) poseerá actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Asimismo, genera las siguientes subpreguntas:

¿Qué metabolitos estarán presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de manayupa?

- ¿A qué concentración el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de manayupa presentará actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922?
- ¿A qué concentración el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de manayupa presentará actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

*Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa) fue publicado en sistema de la naturaleza del reino vegetal en 1825 por Augustin Pyramus de Candolle. La especie manayupa, crece en diversas regiones del mundo y en el Perú lo encontramos en los departamentos de Ayacucho, Ancash, Cusco, Huánuco, Junín, Cajamarca y Lima. En nuestra región se le conoce como manayupa, pata de perro, runa manayupa. Es una hierba silvestre que crece al ras del suelo, entre las piedras y a campo abierto. Tiene hojas pequeñas redondeadas de color verde oscuro, algo rugoso, con flores moradas y lilas muy pequeñas, se desarrolla óptimamente entre los 1500 y 3500 m.s.n.m. Vegetal de los andes peruanos, su nombre proviene del vocablo quechua “RANAMANAYUPANA”, que significa “*son tantas sus cualidades que el nombre no puede contarlas*”. Tiene la capacidad de adaptarse a zonas de baja altitud en presencia de clima frío y templado. Se conocen cerca de 350 especies de las regiones tropicales y subtropicales. A continuación, mencionamos algunas:

*Desmodium adscendens*, *D.axillare*, *D.barbatum*, *D.diffusum*, *D.gangeticum*, *D.heterocarpon*, *D.heterophyllum*, *D.incanum*. El recurso vegetal mide entre 30 y 50cm de altura aproximadamente. Lo encontramos en Ayacucho, Ancash, Cusco, Huánuco, Junín, Cajamarca y Lima a 3171m.s.n.m. descripción detallada de manayupa<sup>10</sup>.

- Presenta hojas compuestas por tres folíolos de bordes lisos, pubescentes y unifoliadas<sup>10</sup>.
- Los tallos acanalados, ligeramente rugoso, delgados y débiles permiten expandirse horizontalmente <sup>11</sup>.

- De flores medianas o pequeñas en racimos, generalmente germinadas, la corola varía de rosado – violeta, presenta 10 estambres ovalados y 5 largos que se alternan con 5 más cortos<sup>11</sup>.
- Las semillas se encuentran agrupadas de lado a lado, pequeñas, de color castaño<sup>11</sup>.



**Figura 1. *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa)**

Entre los antecedentes al desarrollo del trabajo de investigación se dispone de los siguientes:

**Del Águila A, et al (2019)**, evaluaron el efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de *Aloysia citriodora* Palau, *Annona muricata* L. y *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (*D. molliculum*) en *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Los resultados dieron por especie más sensible a *Staphylococcus aureus*, con halos de inhibición de 8 a 15.11mm y *P. aeruginosa* con cero inhibiciones. El extracto etanólico de *muricata* L. inhibió a ambas bacterias sólo a concentración de 500mg/ml, dando como promedio 9.0mm del halo de inhibición para *P. aeruginosa* y 7mm para *S. aureus*. Por último, la especie más sensible a *D. molliculum* fue *P. aeruginosa* promediando de 6 a 10mm de halo de inhibición y *S. aureus* mostro como resultado halos de 6 a 9.77 mm<sup>12</sup>.

**Olivera N, et al (2018)** realizaron el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. y su efecto antibacteriano sobre cultivos de *Escherichia coli*, *in vitro*. Los resultados de la marcha fitoquímica fueron los metabolitos secundarios:

alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas aminoácidos y cumarinas. Dando como resultado que el extracto etanólico a las concentraciones de 50 y 25% no presentaron actividad antibacteriana, mientras que al 100 y 75% se obtuvo actividad antibacteriana con promedio de 10.44 y 4.77mm comparado con amikacina 21.77mm y cloranfenicol 13.77mm en la medición de los halos de inhibición<sup>10</sup>.

**Polo M. (2018)** evaluó la actividad antibacteriana de 5 especies vegetales: *Cuphea ciliata* Ruiz & Pav, *Myrcianthes myrsinoides* (Kunth), *Clinopodium pulchellum* (Kunth), *Desmodium molliculum* (Kunth), y *Bejaria aestuans* Mutis, de la región la libertad. Las cepas empleadas fueron *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Los resultados indican que *Myrcianthes myrsinoides* y *Clinopodium pulchellum* presentaron actividad bactericida para las cuatro cepas bacteriológicas; *Cuphea ciliata* solo presentó actividad bactericida para *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus aureus* resistente; *Desmodium molliculum*, y *Bejaria aestuans* presentaron actividad bacteriostática para *Bacillus subtilis* y actividad bactericida para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia. Coli* y SARM<sup>11</sup>.

**Barreto D, et al (2017)** investigaron los metabolitos secundarios presentes como flavonoides y saponinas en el extracto etanólico de hojas de *Desmodium molliculum* HBK manayupa. En el resultado de la marcha fitoquímica se obtuvieron: taninos, flavonoides, alcaloides y saponinas. El análisis espectroscópico UV se confirmó uno de los isoflavonoides como genisteína y posiblemente 5-O-metil-genisteína<sup>13</sup>.

**Landeta J. (2015)**, evaluó la actividad antibacteriana de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. frente a *Staphylococcus aureus*. Los resultados describen que los metabolitos secundarios encontrados en el análisis fitoquímico son: alcaloides, esteroides, flavonoides, antraquinonas, cardiotónicos responsables de la actividad antibacteriana por ser los más abundante, el extracto a la concentración de 250

ppm inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* siendo efectiva como la dicloxacilina, que es la droga de elección para su tratamiento<sup>14</sup>.

**Lozano N, et al (2014)** realizaron la evaluación fitoquímica y actividad biológica de tres muestras de *Desmodium molliculum* (H.B.K) D.C. manayupa procedentes de Cajamarca (Muestra E1), Huánuco (Muestra E2) y Junín (Muestra E3). En el resultado del bioensayo de toxicidad en *Artemia salina* Leach muestran una buena actividad biológica, con valores LC50: 100,427ug/mL (muestra E1), LC50: 101,5567ug/mL, LC50: 122,17ug/mL (muestra E2) y LC50: 93,5111ug/mL (muestra E3). Del estudio fitoquímico, se observaron que las tres muestras en estudio presentaron una considerable cantidad de metabolitos secundarios en su mayoría flavonoides. Se concluye que la muestra de Cajamarca posee la mayor actividad biológica evaluada<sup>15</sup>.

Se justifica el estudio debido a que en la actualidad, los casos incidentes con infecciones urinarias han aumentado en el primer semestre del 2020, lo cual ha generado un consumo excesivo de medicamentos antibacterianos ocasionando una tendencia a la resistencia bacteriana<sup>16</sup>. Motivo por el cual se investiga nuevas intervenciones farmacológicas frente a microorganismos oportunistas con el uso de recursos naturales, y se conoce la actividad antibacteriana de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) en diferentes regiones del país, por lo cual se comparó con el estudio que se realizó en la localidad de San Pedro de Cani, distrito de Quichqui provincia de Huánuco a 3171 msnm<sup>17</sup>.

El objetivo general del estudio fue evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de la especie *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con la muestra obtenida del departamento de Huánuco.

Los objetivos secundarios fueron:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico
- Determinar la máxima concentración del extracto hidroalcohólico que presenta actividad antibacteriana frente a la cepa de *Escherichia. Coli* ATCC 25922.

- Determinar la máxima concentración el extracto hidroalcohólico que presenta actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La hipótesis general del estudio se describe como:

El extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) colectados en Huánuco presenta actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Las hipótesis secundarias serán:

- El extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de la especie de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) presenta los siguientes metabolitos posiblemente relacionados con la actividad antibacteriana como son los flavonoides, taninos, saponinas y alcaloides.
- El extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de la especie de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) a diferentes concentraciones influye escalativamente sobre la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.
- El extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de la especie de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) a diferentes concentraciones influye escalativamente sobre la actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El enfoque del estudio es cuantitativo y de diseño experimental porque se manipulará la variable independiente.

**Analítico:** Porque son estudios que establecen relaciones entre las variables de asociación o causalidad.

**Explicativo:** Se busca interpretar porque ocurre un fenómeno. Se va a evaluar la acción antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Deductivo:** Utilizado para deducir conclusiones lógicas a partir de una serie de premisas o principios. En este sentido, es un pensamiento que va de lo general a lo particular.

**Prospectivo:** Porque se recolectará datos después de iniciada la investigación.

**Longitudinal:** Porque la variable independiente será medida en diferentes momentos.

### 2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

Constituida por un kilogramo de hojas y tallos de la planta de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) procedentes de la localidad de San Pedro de Cani, distrito de quichqui, provincia de Huánuco, región Huánuco a una altura de 3171 m.s.n.m.

Se llevó el recurso vegetal al Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde se realizó la identificación botánica (ANEXO B).

Se seleccionaron las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa) y se eliminó las partes deterioradas y otras impurezas. Luego se

realizó el lavado con abundante agua y posteriormente se dejó a temperatura ambiente.

Las hojas y tallos de Manayupa se dejó secar completamente en una estufa. Luego se realizó la molienda con un mortero y luego almaceno la muestra vegetal hasta la elaboración de extracto hidroalcohólico.

El extracto hidroalcohólico se trabajó en el laboratorio de Ciencias Biológicas en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se procedió a preparar una solución hidroalcohólica de grado 60 a partir de alcohol etílico de grado 96 y agua bidestilada. En un recipiente se colocó 1 Kg de la muestra seca trozada y se le agrega la solución hidroalcohólica recién preparada, dejando la muestra vegetal totalmente sumergida en la solución a temperatura de ambiente y protegido de la luz, por el método de maceración dejándolo aproximadamente por 10 días, durante este tiempo se realizó movimientos diarios de homogenización por el espacio de tres minutos en la mañana y tarde. Concluido el tiempo determinado se filtró y luego se llevó a secar en baño maría a  $40^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , el extracto concentrado se transvaso a un recipiente y se dejó a temperatura de refrigeración.

En cuanto a la unidad de análisis se utilizaron con cepas certificadas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### **2.3 VARIABLES DE INVESTIGACIÓN**

En el siguiente estudio se presentará nuevas oportunidades de tratamiento como variable principal, es una variable cuantitativa y su escala de medición es longitudinal.

**Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la especie *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) colectados en Huánuco.

**Variable dependiente:** Actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### **2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Ficha ad doc. De recolección de datos para la actividad farmacológica, prueba de solubilidad, marcha fitoquímica y actividad antibacteriana elaborada por los investigadores.

## **2.5. PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **2.5.1 Análisis previo del extracto hidroalcohólico**

El análisis previo se realizó en el laboratorio del Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru SAC, ubicado en el distrito de Cieneguilla. Se realizaron las siguientes pruebas:

- a) Índice afrosimétrico:** Se coloca 1.00 g de extracto seco en un tubo de ensayo, se adiciona 9 mL de agua destilada. Se agita durante 2 minutos y se observa espuma persistente. Se procede para evaluar presencia de saponinas.
- b) Determinación de pH a 25°C:** En un tubo de ensayo, se agrega 0.1 gramos de extracto seco en 10 mL de etanol 96%. Se disuelve en constante agitación y atempera a 25°C. Se mide el pH con un equipo pH metro marca ISOLAB.
- c) Marcha de solubilidades:** En cada tubo de ensayo se agrega 0.05 gramos de extracto seco y 5 mL de los solventes n-hexano, cloroformo, etanol 96%, metanol, ácido acético y agua destilada.

### **2.5.2 Marcha fitoquímica**

Permite identificar todos los compuestos que presentan los recursos vegetales, de los cuales se presume que tendrían algún tipo de actividad farmacológica en el organismo del ser humano<sup>13</sup>. Se realizó según el método de Olga Lock<sup>18, 19</sup>.

### **2.5.3 Actividad antibacteriana método Kirby Bauer o antibiograma**

Se realizó en laboratorio BIOEN LAB S.A.C por el método de difusión en agar (KIRBY BAUER) con cepas ATCC de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. El método Kirby Bauer permitió la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa) frente a bacterias ATC<sup>20</sup>.

#### **a) Activación de las cepas antibacterianas**

Se activaron según las especificaciones indicadas por el laboratorio.

#### **b) Preparación de los medios de cultivo**

Se utilizó como medio de cultivo Agar Plate Count (APC) siguiendo las instrucciones del fabricante, serán vertidos sobre placas petri de 90 mm de diámetros y se dejó solidificar a temperatura ambiente.

#### **c) Preparación del inóculo**

En tubos de ensayo con solución salina o caldo, con un asa de siembra se inóculo directamente dos a tres colonias de cada cepa y se homogenizó en un agitador vortex, el que se ajustó a la turbidez de la escala 0.5 Mc Farland ( $1,0 \times 10^8$  UFC/ml).

#### **d) Inoculación de placas**

Los inóculos bacterianos ya estandarizados se colocaron sobre la superficie del medio de cultivo sólido, con la ayuda de un hisopo estéril y siguiendo tres direcciones de siembra se consiguió una buena dispersión del inóculo, se dejó reposar por diez minutos. Luego se colocaron los discos de papel filtro Whatman N° 3 de 6 mm de diámetro que se empapó en el extracto vegetal a las diferentes concentraciones por triplicado y posteriormente se incubó por  $24 \pm 2$  horas a  $35^\circ\text{C}$ .

#### **e) Interpretación de resultados**

La lectura de los halos de inhibición se realizó con la ayuda de un vernier y los resultados que se obtendrán serán promediados y considerados en milímetros.

### **2.6 MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Luego de la obtención de resultados de los análisis mencionados, se realizará las evaluaciones mediante estadística descriptiva utilizando el paquete informático Microsoft Excel versión

2016. Asimismo, los cuadros constituidos por los halos de inhibición medidos a las 24 horas de incubación.

## **2.7. ASPECTOS ÉTICOS**

En la presente investigación se utilizaron medios de cultivos y bacterias cumpliendo las normativas éticas, de bioseguridad y normativas de buenas prácticas de laboratorio en los ambientes donde se desarrollaron los experimentos.

### III. RESULTADOS

#### 3.1 De las pruebas de solubilidad

**Tabla 1. Solubilidades del extracto hidroalcohólico desecado.**

SOLVENTES	RESULTADOS
N-hexano	-
Cloroformo	+
Etol 96%	+++
Metanol	+++
Ácido acético	+
Agua destilada	++

Donde: (-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble

#### 3.2 De la marcha fitoquímica

**Tabla 2. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de manayupa**

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	ENSAYO	REACCIÓN
<b>Carbohidratos</b>	Rvo. Molish	+++
<b>Azúcares reductores</b>	Rvo. Fehling	++
<b>Compuestos fenólicos</b>	Rvo. FeCl <sub>3</sub> 5%	+++
<b>Taninos catéquicos</b>	Rvo. Gelatina 1%	+++
<b>Flavonoides</b>	Rvo. Shinoda	+++
<b>Esteroides y triterpenoides</b>	Rvo. Liebermann Burchard	++
<b>Cardenólidos</b>	Rvo. Baljet	-
<b>Alcaloides</b>	Rvo. Dragendorff	-
	Rvo. Mayer	-
<b>Antraquinonas</b>	Rvo. Borntranger	++

Donde: (+++) Abundante (++) Moderado (+) Leve (-) Ausencia

### 3.3 De la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

Tabla 3 Resultados del análisis *in vitro* por el método Kirby Bauer

CEPAS	<i>Escherichia coli</i> ATCC			<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC				
Concentración del extracto hidroalcohólico (%)	Halos de inhibición (mm)							
	n			X	n			X
	1	2	3		1	2	3	
<b>100</b>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<b>75</b>	7.0	7.0	7.0	7.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<b>50</b>	7.0	7.0	7.0	7.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<b>25</b>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

n: número de ensayos microbiológicos

X: promedio

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión

De acuerdo con los resultados del análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa), podemos evidenciar la presencia de diferentes metabolitos en su estructura, tenemos entre los mas abundantes a los carbohidratos, compuestos fenólicos, taninos catequicos y a los flavonoides; la presencia de azúcares reductores, esteroides y antraquinonas es moderada concordando con lo hallado por Olivera (2018), Barreto (2017) y Landeta (2015).

A partir de los resultados encontrados se determinó que el extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa), presento efecto inhibitorio frente *Escherichia coli* ATCC 25923 con halos de inhibición de 7.0 mm de promedio en las concentraciones de 75 y 50%. Encontrando concordancia parcial con el trabajo realizado por Olivera N, et al (2018) ya que mediante su estudio determino halos de inhibición en las concentraciones de 75 y 100% con promedio de 10.44 y 4.77 mm, mientras que en las concentraciones de 25 y 50% no hubo crecimiento.

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 no presento crecimiento en ninguna de las concentraciones, no encontrando relación con lo que menciona Del Águila et al. (2019) quien mediante su estudio logro determinar que el extracto etanólico de manayupa presento actividad antibacteriana con halos de inhibición de 6 a 9.77 mm a las concentraciones de 100, 200, 300, 400 y 500 mg/ml. Y Landeta J. (2015) que mediante sus estudios evaluó que el extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. A concentración de 250 ppm. inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

### 4.2 Conclusiones

Los estudios realizados en el presente trabajo nos permiten llegar a la siguiente conclusión:



- Los carbohidratos, compuestos fenólicos, taninos catequicos y los flavonoides son los compuestos que le dan la actividad antibacteriana del recurso vegetal.
- No se presentó ningún problema para la obtención de la muestra de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC (manayupa) para realizar el extracto hidroalcohólico.
- El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC presento actividad antibacteriana utilizando el método Kirby Bauer concluimos que tiene efecto inhibitorio para *Escherichia coli* en las concentraciones de 75 y 50%, mientras que al 25 y 100% no presento actividad antibacteriana.
- Para *Staphylococcus aureus* concluimos que no presento actividad antibacteriana en ninguna de las cuatro concentraciones.

#### **4.3 Recomendaciones**

- Se debe realizar investigaciones más profundas de los recursos vegetales para evitar la toxicidad que producen los fármacos sintéticos.
- Realizar investigaciones de toxicidad *in vivo* de los extractos para incentivar su uso.
- Para evitar el daño de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC deben permanecer en frascos de color ámbar.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alfaro Mendivel, M. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (HBK) D.C. (manayupa), Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Ayacucho Perú 2016.
2. Organización Mundial de la Salud, *Escherichia coli*. [en línea] 2018. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
3. Organización Panamericana de la Salud, Diagnóstico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos. [en línea]. Disponible en:  
<https://www.paho.org/arg/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libroetas/modulo2/modulo2n.html>
4. Quiroz del Castillo A, Apolaya Segura M. Prevalencia de infección de la vía Urinaria y perfil microbiológico en mujeres que finalizaron el embarazo en una clínica privada de Lima Perú 2018. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0300-90412018001000634&Ing=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0300-90412018001000634&Ing=es&nrm=iso&tlng=es)
5. Tamariz J, Agapito J, Horna G, Tapia E, Vicente W, Silva M, Zerpa R. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima Perú 2010. Disponible en:  
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v21n1/v21n1ao1.pdf>
6. Gallegos Zurita, M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador [en línea] 2016 setiembre [citada: 2016 diciembre]; 77 (4).  
Disponible  
en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832016000400002](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002)
7. Bussmann Rainer, Douglas Sharon. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia [en línea]. Perú: GRAFICART SRL; 2015.  
Disponible en:  
[http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/916684/plantas-medicinales-de-los-andes-y-la-amazonia-la-flora-magica-\\_Qa3dgqr.pdf](http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/916684/plantas-medicinales-de-los-andes-y-la-amazonia-la-flora-magica-_Qa3dgqr.pdf).

8. Talavera M, Acosta L, Rodríguez MF. Bacterias oportunistas involucradas en infecciones oculares 2015;13(2):73-84 Universidad de La Salle Bogotá Colombia.
9. Gamarra C. Usos de Plantas Medicinales por Usuarios Externos del Hospital Regional Hermilio Valdizan Medrano - Huánuco, 2016, Tesis para obtener el título profesional de Licenciada en Enfermería. Huánuco: Universidad de Huánuco; 2017.
10. Olivera Torres N, Príncipe Elescano P. Extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. Y su Efecto Antibacteriano sobre cultivos de *Escherichia coli*, estudios *in vitro*, Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico y Bioquímico Universidad Inca Garcilaso de la Vega Lima Perú 2018.
11. Polo Vidal M. Actividad antibacteriana de especies vegetales procedentes del distrito de Cachicadán, provincia de Santiago de Chuco La Libertad para optar el título profesional de Químico Farmacéutico Universidad Nacional de Trujillo Perú 2018.
12. Del Águila A, Candenillas M. Efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de *Aloysia citriodora* Palau, *Annona muricata* L. Y *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. sobre *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Para obtener el título profesional de Licenciado en Biología – Microbiología – Parasitología, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo Lambayeque Perú 2019.
13. Barreto D, Bonilla P. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (manayupa) Ciencia e Investigación Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima. Perú 2017.
14. Landeta Maldonado J. Evaluación de la actividad antibacteriana de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. Treinta Reales, utilizando un modelo *in vivo*. Tesis para optar por el título profesional de Químico Farmacéutico Universidad Central del Ecuador, Quito Ecuador 2015.
15. Lozano N, Bonilla P, Arroyo J, Arias G, Córdova A, Baldoce F. Evaluación fitoquímica y actividad biológica de *Desmodium molliculum* (H.B.K) DC. “Manayupa” Revista Ciencia e Investigación, Facultad de

- Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Lima Perú 2014.
16. Pintado V. Fármacos Antiguos y nuevos en el tratamiento de la infección por bacterias multirresistentes [en línea] 2016 [Citada:2020]  
[aproximadamente 50 pp.] Disponible en:  
<http://www.seq.es/seq/0214-3429/29/sup1/9pintado.pdf>
  17. Ministerio de Desarrollo e Inclusión Social Programa Nacional País datos de la ubicación de San Pedro de Cani Distrito de Quichqui provincia de Huánuco [en línea] 2019. Disponible en:  
[http://www.pais.gob.pe/tambook/tambo/perfiltambo/index/id\\_tambo/7611](http://www.pais.gob.pe/tambook/tambo/perfiltambo/index/id_tambo/7611)
  18. Sánchez R, Ruíz A, Ruíz C, Aguirre L, Salazar A, Actividad antioxidante y marcha fitoquímica de los capítulos de Tagetes filifolia Lag. “pacha anís”, Perú [en línea citado: diciembre 2020] 17 (1). Disponible en:  
[https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/09/911936/actividad-antioxidante-y-marcha-fitoquimica-de-los-capitulos-de\\_RE7ddAZ.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/09/911936/actividad-antioxidante-y-marcha-fitoquimica-de-los-capitulos-de_RE7ddAZ.pdf)
  19. Salazar A. Estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Desmodium adscendens* “hierba del infante” y la elaboración de una técnica de cuantificación del metabolito de mayor presencia, tesis para obtener el grado de Químico Farmacéutico en la escuela superior Politécnica de Chimborazo Riobamba Ecuador 2015.
  20. Mulato J, Resistencia antibiótica a los agentes causales de mastitis en vacas, tesis para optar el título de ingeniero zootecnista Universidad Nacional de Huancavelica Perú 2018.

## **ANEXOS**

## Anexo A. Operacionalización de las variables

VARIABLES	Tipo de variable según su naturaleza y escala de medición	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	N° DE ITEMS	VALOR FINAL	CRITERIOS PARA ASIGNAR VALORES
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b> El extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC. (manayupa).	Cualitativo y Longitudinal	Se usa alcohol de 96° y vegetales, que pueden actuar: insecticidas, fungicidas, nematocidas, repelente, de acuerdo al vegetal que se use para su elaboración; el alcohol extrae las propiedades de los vegetales	Extracto hidroalcohólico es la forma práctica de concentrar y obtener los principios activos que sintetizan los vegetales. El extracto hidroalcohólico facilita la extracción de sustancias que ejercen algún tipo de actividad en nuestro organismo.	Tamizaje fitoquímico	<b>Presencia de metabolitos secundarios</b>	5	++++ Abundante +++ Moderado ++ Leve + Escaso - Ausente	Rango de presencia o ausencia
				Diluciones del extracto hidroalcohólico	Concentraciones específicas	4	100 % 75% 50% 25%	Concentración final después de la dilución
<b>VARIABLE DEPENDIENTES</b> Actividad antibacteriana	Cuantitativo y Longitudinal	Conjunto de compuestos que eliminan o reducen microorganismos causantes de enfermedad: bacterias, virus, hongos o parásitos. Los antibióticos, antibacterianos que se usan en humanos, alimentos o desinfectantes	La actividad antibacteriana Método Kirby Bauer o antibiograma nos ayudará a evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC. (Manayupa) frente a bacterias ATCC	<b>Inhibición del crecimiento bacteriano</b>	Halo de inhibición (mm)	2	Crecimiento o Sin crecimiento o	Evidencia de inhibición de crecimiento

**ANEXO B**  
**CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

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

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

**CONSTANCIA N° 414-USM-2019**

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

La muestra vegetal (planta estéril) recibida de **Olivia Mabel Alvarez Capcha**; estudiante de la Universidad Alas Peruanas, ha sido estudiada y clasificada como: ***Desmodium molliculum* (Kunth) DC.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ROSIDAE**

**ORDEN: FABALES**

**FAMILIA: FABACEAE**

**GENERO: *Desmodium***

**ESPECIE: *Desmodium molliculum* (Kunth) DC.**

Nombre vulgar: "manayupa"  
Determinado por Dra. Joaquina Albán Castillo

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

Lima, 28 de noviembre de 2019

  
**Dra. Joaquina Albán Castillo**  
JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



JAC/ddb

**ANEXO C**  
**PREPARACION DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO**

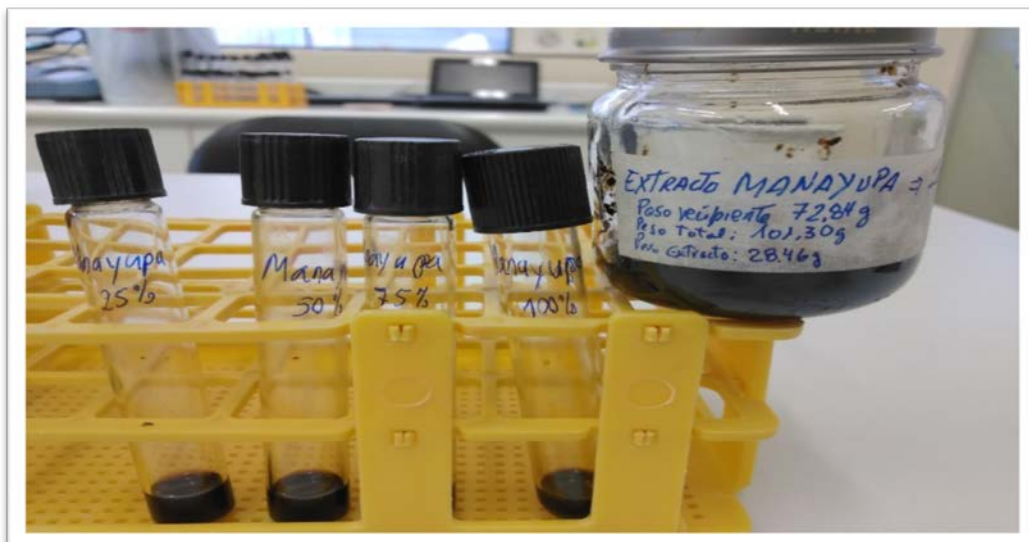


## ANEXO D

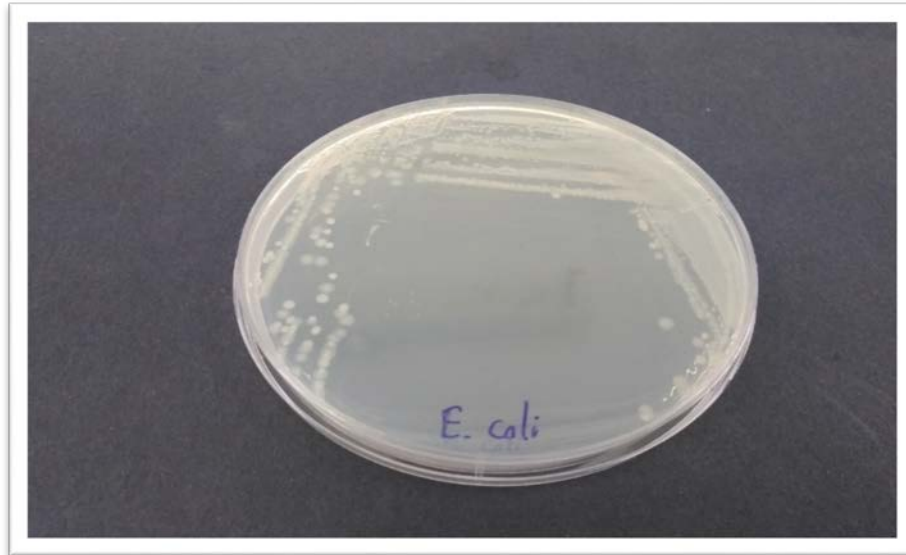
### MUESTRA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE MANAYUPA CON EL DILUYENTE DIMETILSULFOXIDO (DMSO)



### EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE MANAYUPA DILUIDO EN 04 CONCENTRACIONES



**PLACA DE CONTROL *E. coli***



**PLACA CON LA BACTERIA *E. coli* INOCULADA CON DISCOS ENBEBIDOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE MANAYUPA AL 100%**



**PLACA CON LA BACTERIA *E. coli* NOCULADA CON DISCOS ENBEBIDOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE MANAYUPA AL 75%**



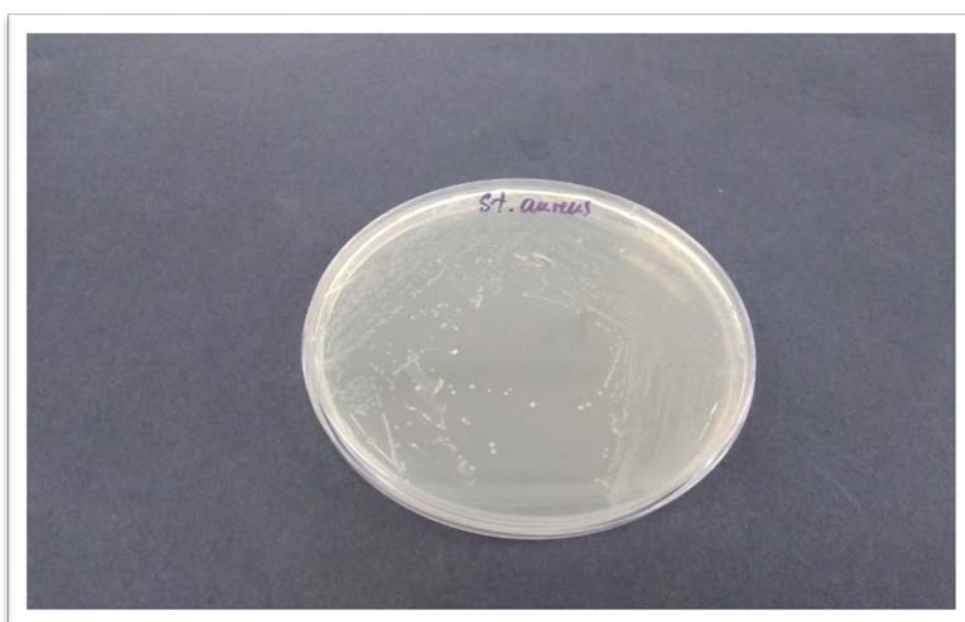
**PLACA CON LA BACTERIA *E. coli* INOCULADA CON DISCOS ENBEBIDOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE MANAYUPA AL 50%**



**PLACA CON LA BACTERIA *E. coli* INOCULADA CON DISCOS ENBEBIDOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE MANAYUPA AL 25%**



**PLACA DE CONTROL *S. aureus***



**PLACA CON LA BACTERIA *S. aureus* INOCULADA CON DISCOS ENBEBIDOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE MANAYUPA AL 100%**



**PLACA CON LA BACTERIA *S. aureus* INOCULADA CON DISCOS ENBEBIDOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE MANAYUPA AL 75%**





**PLACA CON LA BACTERIA *S. aureus* INOCULADA CON DISCOS ENBEBIDOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE MANAYUPA AL 50%**



**PLACA CON LA BACTERIA *S. aureus* INOCULADA CON DISCOS ENBEBIDOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE MANAYUPA AL 25%**

