

## FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

# EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Polygala sp* (CANCHALAGUA) y Croton elegans (MOSQUERA) IN VITRO EN Staphylococcus aureus (ATCC:25923) COMPARADO CON LA AMPICILINA.

# TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUIMICO FARMACEUTICO

#### **AUTORES:**

Bach. DAVILA RAIME, ANITA FLOR <a href="https://orcid.org/0009-0000-7519-7782">https://orcid.org/0009-0000-7519-7782</a>

Bach. VILLANUEVA COTRINA, BRIAN BENHAMIN https://orcid.org/0009-0009-0665-1748

#### ASESOR:

MsC. CORDOVA SERRANO, GERSON https://orcid.org/0000-0002-5591-0322

**LIMA – PERÚ 2024** 

#### DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Anita Flor Davila Raime, con DNI 44784501 en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico (grado o título profesional que corresponda) de título "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE Polygala sp (CANCHALAGUA) y Croton elegans (MOSQUERA) IN VITRO EN Staphylococcus aureus (ATCC:25923) COMPARADO CON LA AMPICILINA", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 13% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 18, de Junio\_2024.

Anita Flor Davila Raime

Firma del autor:

211743411

Msc. Gerson Cordova Serrano

Firma del Asesor:

- 1. Apellidos y Nombres
- 2. DNI
- 3. Grado o título profesional
- 4. Título del trabajo de Investigación
- 5. Porcentaje de similitud

#### DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Brian Benhamin Villanueva Cotrina, con DNI 70939013 en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico (grado o título profesional que corresponda) de título "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE Polygala sp (CANCHALAGUA) y Croton elegans (MOSQUERA) IN VITRO EN Staphylococcus aureus (ATCC:25923) COMPARADO CON LA AMPICILINA", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 13% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 18, de Junio\_2024.

Brian Benhamin Villanueva Cotrina

Firma del autor:

AB MARIA AUXILMOORA

Msc. Gerson Cordova Serrano

Firma del Asesor:

- 1. Apellidos y Nombres
- 2. DNI
- 3. Grado o título profesional
- 4. Título del trabajo de Investigación
- 5. Porcentaje de similitud

## APlagio INFORME FINAL DE TESIS VILLANUEVA DAVILA (4) - copia.docx

FUENTE:	ESTUDIANTE S PRIMARIAS	_
1	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	6
2	repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	3
3	renati.sunedu.gob.pe Fuente de Internet	2
4	www.scielo.org.mx Fuente de Internet	2

#### **DEDICATORIA**

Brindamos nuestra dedicación: En primer lugar, a Dios por habernos dado la sabiduría y vocación de realizar este trabajo, mantenernos en vida para gozar de la dicha del logro y la satisfacción de ver felices a nuestras familias, quienes nos brindan el apoyo incondicional y la fortaleza para seguir construyendo nuestro futuro profesional. Por otro lado, a nuestros seres queridos que no se encuentran ya en este mundo terrenal pero que desde el cielo se encuentran guiando nuestros pasos.

#### **AGRADECIMIENTOS**

No existe hoy en día una palabra que describa el agradecimiento hacia el Msc.Gerson Córdova Serrano y si la existiera seria la "dedicación", un docente dedicado a sus estudiantes, al aprendizaje, al desarrollo profesional y científico, el pilar para que este trabajo de investigación culmine con gran éxito.

#### **INDICE GENERAL**

l.	INTRODUCCIÓN	13
II.	MATERIALES Y MÉTODOS	20
2	2.1 Enfoque y diseño de la investigación	20
2	2.2 Población, muestra y muestreo	20
	2.2.1 Criterio de inclusión	20
	2.2.2 Criterios de exclusión	21
	2.2.3 Muestreo	21
2	2.3 Variables de la investigación	. 21
2	.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	22
2	2.5 Procedimiento de recolección de datos	22
	2.5.1 Recolección y selección	22
	2.5.2 Preparación del extracto	23
	2.5.3 Prueba de solubilidad	23
	2.5.4 Tamizaje fitoquímico	
	2.5.5 Estudio Microbiológico	
	2.5.5.1 Actividad antibacteriana	24
	2.5.4.2 Obtención de los microorganismos	
	2.5.4.3 Ensayo de actividad microbiológica	25
2	2.6 Aspectos Estadísticos	26
2	2.7 Aspectos Éticos	26
III.I	RESULTADOS	27
IV.	DISCUSION	42
	CONCLUSIONES	
RE	FERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	46
ΑN	FXOS	51

#### **INDICE DE TABLAS**

Tabla 1: solventes para las pruebas de solubilidad	24
Tabla 2 Porcentaje de humedad de los tallos menores y hojas de Polygala sp	
(Canchalagua)	27
Tabla 3 Porcentaje de humedad de las hojas de Croton elegans (Mosquera)	27
Tabla 4 Rendimiento del extracto hidroalcohólico de los tallos menores y hojas	de
Polygala sp (Canchalagua)	27
Tabla 5 Rendimiento del extracto hidroalcohólico de las hojas de Croton elegan	ıs
(Mosquera)	28
Tabla 6 Determinación de solubilidad del extracto hidroalcohólico de los tallos	
menores y hojas de Polygala sp (Canchalagua)	29
Tabla 7 Determinación de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas d	ek
Croton elegans (Mosquera)	30
Tabla 8 Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de tallos menores, ho	jas
de Polygala sp (Canchalagua)	31
Tabla 9 Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico hojas de Croton elega	ากร
(Mosquera)	32
Tabla 10 Halos de inhibición del ensayo microbiologico del extracto	
hidroalcohólico de Polygala sp (Canchalagua) y hojas de Croton elegans	
(Mosquera) frente a Staphylococcus aureus (ATCC:25923)	33
Tabla 11 Análisis de la primera tabla de varianza (ANOVA)	34
Tabla 12 Análisis de la segunda tabla de varianza (ANOVA)	37
Tabla 13 Análisis de la tercera tabla de varianza (ANOVA)	39

#### **INDICE DE FIGURAS**

Figura 1 Diagrama de Pareto Estandarizado del primer ANOVA	. 35
Figura 2 Grafico de superficie respuesta del primer ANOVA	. 36
Figura 3 Diagrama de Pareto Estandarizado del segundo ANOVA	. 38
Figura 4 Grafico de superficie respuesta del segundo ANOVA	. 39
Figura 5 Diagrama de Pareto Estandarizado del tercer ANOVA	. 40
Figura 6 Grafico de superficie respuesta del tercer ANOVA	. 41

#### **INDICE DE ANEXOS**

Anexo A. Operacionalizacion de variables	51
Anexo B. Fichas de recolección de datos	52
Anexo C. Procedimiento de recoleccion de datos	55
Anexo D. Certificado de clasificación taxonómica	61
Anexo E. Certificado de la Cepa ATCC.	63

#### **RESUMEN**

**Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Polygala sp* (canchalagua) y *Croton elegans* (mosquera) in vitro en *Staphylococcus aureus* (ATCC:25923) comparado con la ampicilina.

**Materiales y métodos:** La investigación es de tipo explicativa, de enfoque cuantitativo, diseño experimental multifactorial. Se extrajo mediante la técnica de maceración hidroalcohólica. La actividad antibacteriana se determinó mediante el método de Kirby-Bouer.

**Resultados:** Se halló en el análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Polygala sp* (canchalagua) y *Croton elegans* (mosquera) la presencia de saponinas, triterpenos, esteroides, y compuesto fenólicos Así mismo se obtuvo un 55% y 35% de humedad, ambas plantas solubles en alcohol. También se obtuvo un rendimiento de 12.63% y 13.16%. Además, se registró la inhibición bacteriana en sinergismo farmacológico con un halo de inhibicion de 11.126 mm.

**Conclusiones:** El extracto hidroalcohólico de *Polygala sp* (canchalagua) y *Croton elegans* (mosquera) presenta efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* individualmente y en sinergismo farmacológico.

**Palabras claves:** *Staphylococcus aureus,* sinergismo farmacologico, antibacteriano. (*Fuente DeCS*)

**ABSTRACT** 

Objective: To determine the antibacterial effect of hydroalcoholic extract of

Polygala sp (canchalagua) and Croton elegans (mosquera) in vitro on

Staphylococcus aureus (ATCC:25923) compared to ampicillin.

Materials and methods: The research is of explanatory type, quantitative

approach, multifactorial experimental design. It was extracted by hydroalcoholic

maceration technique. The antibacterial activity was determined by the Kirby-Bouer

method.

Results: Phytochemical analysis of the hydroalcoholic extract of Polygala sp

(canchalagua) and Croton elegans (mosquera) showed the presence of saponins,

triterpenes, steroids, and phenolic compounds, as well as 55% and 35% of moisture,

both plants soluble in alcohol. Yields of 12.63% and 13.16% were also obtained. In

addition, bacterial inhibition was recorded in pharmacological synergism with an

inhibition halo of 11.126 mm.

**Conclusions:** The hydroalcoholic extract of Polygala sp (canchalagua) and Croton

elegans (mosquera) shows antibacterial effect against Staphylococcus aureus

individually and in pharmacological synergism.

Key words: Staphylococcus aureus, Drug Synergism, Anti-Bacterial. (Source

MeSH)

12

#### I. INTRODUCCIÓN

Cuando se mencionan las bacterias, es común asociarlas con enfermedades, ya que, a lo largo de la historia, algunas bacterias han sido la causa de epidemias devastadoras. Un ejemplo notable es la peste negra o bubónica, que fue causada por la bacteria Yersinia pestis y resultó en la trágica pérdida de aproximadamente 200 millones de vidas, afectando a un tercio de la población europea entre los siglos VIII y XIV. (1)

Las enfermedades infecciosas no hacen distinciones. No discriminan en función de la belleza, el ingenio, la educación o el camino a la vigilancia clínica. Pueden afectar a cualquier persona, y la amenaza de infección es letal desde el inicio. A partir del cólera hasta la malaria, numerosos contagios han asolado diversas localidades. Algunas de estas catástrofes han sido tan devastadoras que, de no haber ocurrido, podrían haber alterado significativamente la historia tal como la conocemos. (2)

Por ejemplo, durante el siglo V, Atenas se vio asolada por la plaga, que cobró la vida del gobernador ateniense Pericles y perturbó a decenas de miles de civiles. Según el relato de Tucídides, los síntomas incluían fiebre elevada, hemorragias por la boca, ojos enrojecidos, tos, vómitos, diarrea y sequedad bucal. La piel de los afectados se cubría de llagas y la mayoría de los enfermos perecía en una semana. El sufrimiento que Tucídides presenció y describió en su crónica de la Guerra del Peloponeso era tan intenso que lo describió como "casi más allá de lo que la naturaleza humana podría soportar". (3)

Para que se desencadene una infección de cualquier tipo, las bacterias deben primero ganar acceso al organismo huésped. Una vez dentro, estas bacterias buscan inmediatamente adherirse a las células o tejidos. Staphylococcus aureus, por ejemplo, dispone de una sucesión de proteínas en su zona que le permiten acoplar a las proteínas presentes en la matriz extracelular del huésped, como la laminina y la fibronectina. Estas proteínas extracelulares son fundamentales para la comunicación intercelular y desempeñan un papel crucial

en la interacción entre la bacteria y el organismo huésped. (4)

El descubrimiento del Staphylococcus aureus se atribuye a Anton Rosenbach, medico especialista en cirugía de procedencia alemana, en 1884. Rosenbach aisló cepas bacterianas, S. aureus y Staphylococcus epidermidis, dándole el seudónimo en función del semblante teñido y dorado de las colonias. En esa época, la infección por esta bacteria tenía una elevada tasa de mortalidad, llegando al 82%, y desafortunadamente, la falta de antibióticos adecuados en ese entonces resultaba en una alta letalidad para los pacientes infectados con Staphylococcus aureus. (5)

La introducción de penicilinas y diversas categorías de agentes antibacterianos marcó un avance significativo en el control de los contagios causados por Staphylococcus aureus. Sin embargo, actualemente, estamos presenciando un preocupante aumento de la resistencia bacteriana, representando una carga sobre producente para los recursos de atención médica. Diversos países, las infecciones nosocomiales por Staphylococcus aureus con resistencia a la meticilina (MRSA) son lamentablemente comunes, como entornos hospitalarios.

Los antecedentes del Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales en los Estados Unidos indican un aumento significativo en la incidencia de infecciones nosocomiales causadas por MRSA. Un aumento del 60% de las entradas a UCI, se atribuyen a la bacteria resistente. Este fenómeno representa un desafío importante en el ámbito de la salud pública y el cuidado médico. (6)

En todo el mundo, un considerable número de personas, especialmente en naciones en desarrollo, recurren a las plantas medicinales para abordar sus necesidades de atención médica básica. En el caso de Perú, a pesar de su riqueza en diversidad de material vegetal natural, ha facilitado insuficiente cuidado al progreso del vínculo de valor en este sector. Existen diversas áreas pendientes de atención, tales como el informe apropiado de estas plantas, la preservación de la calidad ambiental, la transformación en exploración, la precaución de eficacia y la seguridad. (7)

La investigación relacionada con el uso de extractos de material vegetal a nivel global se encuentra principalmente concentrada en América del Norte y el Sudeste Asiático, con un 26.94% y un 26.39%, respectivamente, de las publicaciones científicas en esta área. Le sigue Europa, con un 22.15% de las publicaciones. Sin embargo, a pesar de que América Latina alberga una de las mayores biodiversidades en fuentes naturales de plantas medicinales, su contribución en términos de publicaciones científicas en esta temática es relativamente baja, representando solo un 6.05% del total. (8)

Las plantas medicinales, según la investigación científica, presentan propiedades terapéuticas de gran utilidad, ya que contienen una variedad de sustancias químicas beneficiosas. Esta investigación abre la puerta para la identificación de nuevos principios activos, a su vez, ofrece la posibilidad de abordar de manera efectiva las numerosas enfermedades que afectan al entorno donde vivimos (9)

El material vegetal usado en el ámbito medicinal, según la investigación científica, presentan propiedades terapéuticas de gran utilidad, ya que contienen una variedad de sustancias químicas beneficiosas. Esta investigación abre la puerta para la identificación de nuevos principios activos, a su vez, ofrece la posibilidad de abordar de manera efectiva las numerosas enfermedades que afectan a la sociedad. (10)

Teniendo en consideración todos los datos previamente planteados establece la necesidad y la importancia de seguir en el esfuerzo de incrementar las publicaciones sobre plantas medicinales y su actividad antimicrobiana, como por ejemplo la actividad antimicrobiana de los recursos vegetales que crecen en él país, como en el distrito de Querocotillo-Cutervo-Cajamarca, haciendo mención a la *Polygala sp* (Canchalagua) y *Croton elegans* (Mosquera).

El antibiograma es un procedimiento microbiológico utilizado para evaluar la capacidad de una bacteria para ser sensible o resistente a diferentes tipos de antibióticos. De forma sencilla, se puede entender como un reporte informa sobre el nivel de susceptibilidad de cepas bacterianas a una variedad de antibióticos.

(11)

El ensayo de difusión de disco es ampliamente utilizado, reconocido comúnmente con el nombre de prueba Kirby-Bauer, es apropiado en bacterias de crecimiento acelerado. Consiste en la disposición de discos impregnados con antibióticos sobre placas de agar previamente inoculadas con la bacteria que se ha escogido realizar el estudio. Luego de un período de incubación, en un plazo de 16 a 18 horas, se realiza la medición del diámetro del área de inhibición que rodea a los discos. Cada prueba de microorganismo con antibiótico presenta diámetros distintos, lo que indica si la cepa es susceptible (S), intermedia (I) o resistente (R) al antibiótico. (12)

Se han elaborado trabajos de investigación en el ámbito nacional en el que se resalta la investigación de Correa C. quien, en el año 2021, examinó el efecto antibacteriano de algarrobina en Escherichia coli y Staphylococcus aureus. Se llevó a cabo una comparación de la concentración mínima inhibitoria de la algarrobina en cada una de las bacterias. Desde una perspectiva metodológica, este estudio siguió un enfoque analítico, prospectivo y longitudinal, en el marco de un diseño experimental. La muestra de estudio consistió en cepas de Escherichia coli ATCC® 25922™ y Staphylococcus aureus ATCC® 25923™, que fue sometida al accionar de la Algarrobina (Extraído de Prosopis pallida). Para el análisis estadistico, se emplearon pruebas como ANOVA y HSD Tukey usando el software SPSS versión 26. Los resultados demostraron que la algarrobina inhibió el crecimiento de Escherichia coli, generando un halo de inhibición con un promedio de 12.48 ± 0.71 mm. Del mismo modo, Staphylococcus aureus también fue inhibida por la algarrobina, con un halo de inhibición que promedió 18.64 ± 0.49 mm. (13)

Por otro lado, Alfaro R. quien, en el año 2023, realizo un estudio de tipo cuantitativo, experimental, transversal; con una población 15 kilos de frutos de Persea americana (palta), muestra de 3 kg de cascara, muestra biológica fue de 10 placas Petri inoculadas con Staphylococcus aureus. Se realizó la marcha fitoquímica y el método microbiológico fue la difusión en agar en pozos en 10 repeticiones, constituida por grupos 25 %, 50 %, 75 % y control (Ciprofloxacino 5

μg). Como resultado se detectaron antraquinonas, compuestos fenólicos, taninos, antocianinas y flavonoides. Por otro lado, en el análisis estadístico de ANOVA (p<0,05) y Tukey, se evidenció los halos de inhibición de las concentraciones del 25%, 50% y 75%, (16,96 mm; 18,86 mm y 23,12 mm) respectivamente frente Staphylococcus aureus, los cuales presentaron diferencias estadísticamente significativas, que poseen actividad antibacteriana; no obstante, no superaron al fármaco de referencia ciprofloxacino 5 μg. (14)

De esta manera Tenorio SG, et al. en el año 2020, llevo a cabo una investigación con el propósito de valorar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del material vegetal de Eugenia stipitata, conocido como arazá o guayabo. El estudio se centró en su efecto frente a las bacterias Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Salmonella enterica sv Enteritidis. El enfoque de la investigación fue cuantitativo, con un diseño experimental para el estudio. La obtención del aceite esencial se realizó desde las hojas desecas de Eugenia stipitata mediante el método de arrastre de vapor. La identificación de los metabolitos secundarios se llevó a cabo mediante ensayos cualitativos, empleando tamizaje fitoquímico. La sensibilidad se determinó usando el método de Kirby Bauer, donde el tamaño de los halos de inhibición demostró la actividad antibacteriana en diferentes concentraciones del aceite esencial (25%, 50%, 75%, 100%). La recopilación de estos datos se efectuó mediante el uso de fichas microbiológicas. (15)

De esta forma también se han elaborado trabajos de investigación del ámbito internacional donde se resalta la investigación de Castro C, et al. En el año 2021 tuvo como objetivo general determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Annona muricata L. sobre Staphylococcus aureus, Streptococcus donde su método usado fue que se evaluó 135 muestras conformadas por cepas de Staphylococcus aureus, también se hicieron 5 concentraciones del extracto etanolico y 3 repeticiones del ensayo. Para desarrollar el efecto antibacteriano in vitro se usó el método de disco difusión en agar y macro dilución. Las concentraciones de 125, 250, 500, 750, 1000 mg/ml y SSF como control negativo. Como resultado de la parte experimental el extracto inhibió el crecimiento in vitro de Staphylococcus aureus esto se vio observado en la concentración de 1 000 mg/ml con un tamaño de halos de inhibición de 14,6 mm de diámetro. (16)

Por otro lado, Morales A, et al. En su investigación en el año 2020 fue evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de Croton draco frente a bacterias de importancia a nivel sanitario. Este extracto se obtuvo realizando una maceración hidroalcohólica, el efecto antibacteriano se obtuvo mediante la Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida. De acuerdo al tamizaje fitoquímico de Croton draco evidencio presencia de compuestos fenólicos, terpenos, saponinas y alcaloides. Las bacterias de nivel sanitario mostraron diferentes grados de sensibilidad, donde se determinó un mayo efecto ante bacterias Gram positivas: L. monocytogenes, S. aureus y B. subtillis. (17)

Así mismo, Rivero N, et al. En su investigación en el año 2022 de acuerdo a su metodología uso 5 concentraciones (200 a 12.5 mg mL-1) del extracto hidroalcohólico de Kalanchoe daigremontiana las cuales se usaron para determinar su efecto antibacteriano donde el extracto mostró actividad sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas, determinando una Concentracion mínima inhibitoria de 100 mg mL-1 sobre P. aeruginosa y L. monocytogenes y 0.781 mg mL-1 para B. subtilis and S. aureus. Los resultados obtenidos indican que la muestra vegetal de Kalanchoe daigremontiana en su extracto hidroalcohólico presenta potencial antibacteriano y que podría ser utilizado como una estrategia de control biológico. (18).

Este proyecto de tesis tiene una justificación teórica sólida, ya que se identifican vacíos en el conocimiento y prácticas relacionadas con la utilización de recursos vegetales por parte de los ciudadanos del entorno donde habitamos. Existe una brecha de información y comprensión en torno a estos temas, y en ocasiones, la percepción se transmite de generación en generación en lugar de basarse en fundamentos científicos comprobables. Este enfoque puede conducir al uso inadecuado de los recursos vegetales.

En este contexto, la justificación práctica de este proyecto radica en la generación de resultados que aportarán evidencia científica sobre los compuestos presentes

en los recursos naturales mencionados. El propósito es promover el uso de estos recursos en la zona de Querocotillo, especialmente en áreas alejadas de los centros de salud y con dificultades para acceder a productos farmacéuticos convencionales.

El objetivo general de investigación es: Determinar el efecto antibacteriano in vitro en *Staphylococcus aureus* del extracto hidroalcohólico de *Polygala sp* (Canchalagua) y *Croton elegans* (Mosquera).

Ante estas premisas, se planteó la hipótesis general: El extracto hidroalcohólico de *Polygala sp* (Canchalagua) y *Croton elegans* (Mosquera) presenta efecto antibacteriano in vitro en Staphylococcus aureus.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de la investigación

El presente estudio es de enfoque cuantitativo porque las unidades de medición

de las variables a investigar son numéricas y de diseño experimental

multifactorial planteado por Box- Behnken 3<sup>(3-0)</sup> porque se manipula la variable

no comprobada o independiente, los extractos hidroalcohólicos de Polygala sp

(Canchalagua) y Croton elegans (Mosquera) en condiciones rigurosamente

controladas. Es de tipo explicativa porque se describe de qué modo o por qué

causa se produce una situación o acontecimiento particular, para estudiar sus

consecuencias sobre la variable dependiente Efecto antibacteriano in vitro en

Staphylococcus aureus ATCC 25923.

2.2 Población, muestra y muestreo

Población vegetal: conformada por 2 kilos de material vegetal de Polygala sp

(Canchalagua) en buen estado de conservación ambiental, ubicado en la

localidad de Querocotillo-Cajamarca.

Poblacion vegetal: conformada por 3 kilos de material vegetal de Croton

elegans (Mosquera) en buen estado de conservación ambiental, ubicado en la

localidad de Querocotillo-Cajamarca.

Población biológica: Cepas de Staphylococcus aureus ATCC: 25923

Muestra vegetal: La muestra vegetal está constituida por 182 gramos. de

muestra de tallos y hojas de *Polygala sp* (Canchalagua) y 243 gramos hojas de

Croton elegans (Mosquera).

2.2.1 Criterio de inclusión

Hojas sanas y frescas

Tallos menores que soportan a las hojas.

20

#### 2.2.2 Criterios de exclusión

- Hojas secas y marchitas
- Tallos mayores de la planta.

#### 2.2.3 Muestreo

El muestreo se desarrolló de tipo intencional y no probabilístico.

#### 2.3 Variables de la investigación

**Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de *Polygala sp* (Canchalagua) y hojas de *Croton elegans* (Mosquera).

**Definición conceptual:** Cantidad total administrada de los preparados concentrados de los constituyentes activos de las drogas crudas, obtenidas mediante extracción. (19)

**Definición operacional:** Concentrado de principios activos presentes en las plantas a estudiar obtenidas mediante la maceración constante y posterior evaporación de las plantas secas en una solución hidroalcohólica. (20)

Variable dependiente: Efecto antibacteriano en cepas de *Staphylococcus* aureus ATCC: 25923.

**Definición conceptual:** Capacidad de una sustancia de naturaleza sintética y/o natural exógena que tiene la capacidad de disminuir o inhibir el crecimiento de células procariotas como las *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923. (19)

**Definición operacional:** Cuantificar la inhibición del desarrollo bacteriano, en medios de cultivo previamente contaminados, a través de la medición de los halos. (21)

#### 2.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

#### Ficha de recolección de datos para la identificación fitoquímica:

Se empleo una ficha de recolección de datos especialmente diseñado para recopilar la información derivada de la evaluación fitoquímica. Este análisis se llevará a cabo mediante ensayos cualitativos que involucran reacciones de coloración y/o formación de precipitados. Se utilizarán diferentes reactivos con el objetivo de identificar las diversas clases de metabolitos presentes en las muestras examinadas.

### Formato de registro de datos para la evaluación del efecto antibacteriano:

Se utilizo una ficha de recolección de datos para registrar los valores correspondientes a las concentraciones del 5%, 10%, y 20% para Polygala sp (Canchalagua), así como del 6.25%, 12.5%, y 25% para Croton elegans (Mosquera). Estos datos se ingresarán en columnas individuales para cada material vegetal, incluyendo los grupos de control (tanto negativo como positivo). Se procedió a documentar los resultados de cada intervención, registrando el tamaño de los halos formados en milímetros, de acuerdo con la concentración de cada extracto.

#### 2.5 Procedimiento de recolección de datos

#### 2.5.1 Recolección y selección

La recolección de la planta de *Polygala sp* (Canchalagua) y hojas de *Croton elegans* (Mosquera) se realizó en el pueblo las Palmas jurisdicción de Querocotillo, Cutervo, Cajamarca, situado a una elevación de 1973 m s.n.m. en la etapa de recolección se usó instrumentos de corte manual, estas herramientas se usaron para podar las ramas de la planta. y de estas se seleccionaron solo los tallos delgados con sus hojas, esta muestra fue empacada en papel Kraft para ser secada a temperatura ambiente.

#### 2.5.2 Preparación del extracto

Para la elaboración del extracto, se tomó tallos menores, hojas de Polygala sp (Canchalagua) y hojas de Croton elegans (Mosquera) completamente secos. Usando guantes corrugados Virutex, se procedió a triturar manualmente la muestra hasta obtener partículas muy pequeñas. Una vez que la muestra esté completamente triturada, se pesó 78 gramos de Canchalagua y 122 gramos de Mosquera, que se dividió en dos frascos ámbar de un litro cada uno. Los frascos con la muestra fueron llenados con alcohol al 70°C, utilizando un total de dos litros de alcohol para asegurar que toda la muestra esté cubierta. A continuación, procedimos a que la mezcla repose durante un período de 10 días, con agitación mecánica realizada cada 24 horas.

Después de los 10 días de maceración, se procedió a filtrar la mezcla utilizando papel filtro rápido, lo que resulto en un litro de líquido filtrado. Este filtrado se sometió a un proceso de evaporación en una estufa a 40°C durante 24 horas, con el objetivo de obtener un concentrado final. Este concentrado fue colocado en una placa Petri de vidrio, cubierto con papel film para su análisis posterior.

#### 2.5.3 Prueba de solubilidad

Para llevar a cabo esta prueba de solubilidad, se pesó una cantidad suficiente de material seco de los diferentes extractos, posteriormente se disolvió en alcohol de 70° para lograr un total de 5ml de material elaborado para las reacciones de solubilidad. Luego, se añadió gotas del material elaborado de acuerdo al solvente que se va a realizar la prueba y que la solución repose durante 1 minuto. Posteriormente, se verifico el estado de la solución en cada uno de los tubos de ensayo.

Tabla 1: solventes para las pruebas de solubilidad.

SOLVENTES
AGUA
SOLUCION FISIOLOGICA
ETANOL 40°
ETANOL 70°
ETANOL 90°
ACIDO CLORHIDRICO
HIDROXIDO DE POTASIO
ACETONA
ANHIDRIDO ACETICO
CLOROFORMO
BENCINA

Fuente: Elaboración propia

#### 2.5.4 Tamizaje fitoquímico

Se llevó a cabo la identificación de metabolitos secundarios, como compuestos fenólicos (incluyendo compuestos fenólicos simples, taninos, flavonoides, cumarinas y quinonas), compuestos terpénicos (como sesquiterpenlactonas, esteroides y carotenoides), y compuestos nitrogenados, como alcaloides. Para esta identificación, se empleó diferentes reactivos de coloración y precipitación.

#### 2.5.5 Estudio Microbiológico

#### 2.5.5.1 Actividad antibacteriana

**Método:** (Kirby-Bauer)

**Técnica**: Siembra en superficie

#### 2.5.4.2 Obtención de los microorganismos

Se empleo una cepa de Staphylococcus aureus estándar que se obtuvo a través del laboratorio Gen Lab, el cual cuenta con la certificación acreditada para la venta de esta bacteria con fines de estudios in vitro. Una vez adquirida, se procedió a la activación de la bacteria mediante la siembra en una placa de Petri. Posteriormente, esta placa se colocó en la incubadora a una temperatura de 35°C durante un período de 20 horas, permitiendo la observación del crecimiento bacteriano.

#### 2.5.4.3 Ensayo de actividad microbiológica

En un tubo falcon que contiene caldo TSB, se dispuso colonias activas de Staphylococcus aureus en cantidad suficiente para alcanzar la turbidez correspondiente al estándar de McFarland. Para el cultivo de las cepas de Staphylococcus aureus, se optó por emplear el caldo TSB Caldo Soja Tripticaseína. En esta etapa, se procedió a etiquetar las placas Petri que se utilizarán para la siembra bacteriana.

Una vez confirmada la turbidez según la escala de McFarland, se utilizó un hisopo estéril para la transferencia de la bacteria al medio de cultivo Agar Sangre. Con cuidado, se removió el exceso de inoculo presionando suavemente contra la pared interior del tubo. Se procedió a inocular la bacteria en todas las placas Petri que contienen el medio de cultivo Agar Sangre. Este proceso de siembra se realizó en tres direcciones con el fin de asegurar una distribución uniforme.

Las disoluciones de Polygala sp (Canchalagua) y Croton Elegans (Mosquera) se prepararon a diferentes concentraciones:

#### 1. Solución al 5% p/v:

- Para el E1 Se tomó 125 μL de extracto de la P1 (Canchalagua) y 125 μL de la P2 (Mosquera). La solución se colocó en tubos eppendorf y se completó con alcohol de 70°.
- Para el E2 Se tomó 125 μL de extracto de la P1 (Canchalagua) y 250 μL de la P2 (Mosquera). La solución se colocó en tubos eppendorf y se completó con alcohol de 70°.
- Para el E3 Se tomó 125 μL de extracto de la P1 (Canchalagua) y 500 μL de la P2 (Mosquera). La solución se colocó en tubos eppendorf y se completó con alcohol de 70°.

#### 2. Solución al 10% p/v:

Para el E4 Se tomó 250 μL de extracto de la P1 (Canchalagua) y 125 μL de la P2 (Mosquera). La solución se colocó en tubos eppendorf y se completó con alcohol de 70°.

- Para el E5 Se tomó 250 μL de extracto de la P1 (Canchalagua) y 250 μL de la P2 (Mosquera). La solución se colocó en tubos eppendorf y se completó con alcohol de 70°.
- Para el E6 Se tomó 250 μL de extracto de la P1 (Canchalagua) y 500 μL de la P2 (Mosquera). La solución se colocó en tubos eppendorf y se completó con alcohol de 70°.

#### 3. Solución al 20% p/v:

- Para el E7 Se tomó 500 μL de extracto de la P1 (Canchalagua) y
   125μL de la P2 (Mosquera). La solución se colocó en tubos eppendorf y se completó con alcohol de 70°.
- Para el E8 Se tomó 500 μL de extracto de la P1 (Canchalagua) y
   250μL de la P2 (Mosquera). La solución se colocó en tubos eppendorf y se completó con alcohol de 70°.
- Para el E9 Se tomó 500 μL de extracto de la P1 (Canchalagua) y 500μL de la P2 (Mosquera). La solución se colocó en tubos eppendorf y se completó con alcohol de 70°.

Además, se empleó los siguientes controles:

- Ampicilina 10 μg: Se utilizó 2 microgramos de Ampicilina como control positivo (+).
- Cloruro de sodio (NaCl): Se utilizó cloruro de sodio como control negativo
   (-).

#### 2.6 Aspectos Estadísticos

Los resultados fueron sometidos a análisis estadísticos utilizando el paquete informático Microsoft Excel, para realizar las pruebas de ANOVA, test de Tukey y test de Dunnett.

#### 2.7 Aspectos Éticos

Se siguió todas las pautas de seguridad necesarias para la manipulación de microorganismos y la disposición adecuada de los desechos, ya que estamos tratando con muestras microbiológicas. Es imperativo cumplir rigurosamente con las normas de bioseguridad en este proceso.

#### **III.RESULTADOS**

3.1 Aspectos fisicoquímicos de tallos menores, hojas de *Polygala sp* (Canchalagua) y hojas de *Croton elegans* (Mosquera).

Tabla 2 Porcentaje de humedad de los tallos menores y hojas de Polygala sp (Canchalagua).

Descripción	Muestra
Cantidad de muestra húmeda	20g
Cantidad de muestra seca	9g
% de humedad	55%

La tabla N°2 muestra el porcentaje de humedad del material vegetal estudiado donde para los tallos menores y hojas de *Polygala sp* (Canchalagua) tiene un 55% de humedad, evidenciando un porcentaje medianamente alto de agua en su composición.

Tabla 3 Porcentaje de humedad de las hojas de Croton elegans (Mosquera).

Descripción	Muestra
Cantidad de muestra húmeda	20g
Cantidad de muestra seca	13g
% de humedad	35%

La tabla N°3 muestra el porcentaje de humedad del material vegetal estudiado donde para las hojas de *Croton elegans* (Mosquera) tiene un 35% de humedad, evidenciando un bajo porcentaje de composición de agua.

Tabla 4 Rendimiento del extracto hidroalcohólico de los tallos menores y hojas de Polygala sp (Canchalagua).

Descripción	Muestra
Peso tara (PT)	114g
Peso tara + muestra estabilizada (PTME)	296g
Peso tara + extracto seco (PTES)	137g
Porcentaje de rendimiento	12.63%

La tabla N°4 muestra el porcentaje del rendimiento del extracto hidroalcohólico de acuerdo a la fórmula empleada es de 12.63%. Con la cantidad obtenida hemos determinado la muestra necesaria para emplearlo en los demás ensayos de la investigación.

Tabla 5 Rendimiento del extracto hidroalcohólico de las hojas de Croton elegans (Mosquera).

Descripción	Muestra
Peso tara (PT)	117g
Peso tara + muestra estabilizada (PTME)	360g
Peso tara + extracto seco (PTES)	149g
Porcentaje de rendimiento	13.16%

$$\%E = PTES - PT \times 100$$
  $\%E = \frac{149 - 117}{360 - 117} \times 100$ 

La tabla N°5 muestra el porcentaje del rendimiento del extracto hidroalcohólico de acuerdo a la fórmula empleada es de 13.16%. Con la cantidad obtenida hemos determinado la muestra necesaria para emplearlo en los demás ensayos de la investigación.

## 3.2 Pruebas de solubilidad del extracto de tallos menores, hojas de *Polygala* sp (Canchalagua) y hojas de *Croton elegans* (Mosquera).

Tabla 6 Determinación de solubilidad del extracto hidroalcohólico de los tallos menores y hojas de Polygala sp (Canchalagua).

Polygala sp (Canchalagua)		
Tubo	Solvente	Resultado
N°1	Agua	(+++) Con emulsión
N°2	Solución fisiológica	(+++) Con emulsión
N°3	Etanol 40°	(+++)
N°4	Etanol 70°	(+++) Cambio de color
N°5	Etanol 90°	(+++)
N°6	Acido clorhídrico	(-) Precipitado cambios de densidad
N°7	Hidróxido de potasio	(++) Cambio de color
N°8	Acetona	(+)
N°9	Anhidrido acético	(+)
N°10	Cloroformo	(+)
N°11	Bencina	(-)

Leyenda: (-) No es soluble, (+) baja solubilidad, (++) mediana solubilidad, (+++) alta solubilidad

La tabla 6 nos muestra la alta solubilidad de la Canchalagua en agua, en SSF donde presenciamos una evidencia de emulsión al realizar el ensayo, en todos los solventes de alcohol utilizados se vio la presencia de alta solubilidad y un ligero cambio de color en el etanol 70°, al realizar el ensayo con el HCl pudimos ver un precipitado y unos cambios de densidad pero no es soluble, con el KOH presenciamos un cambio de color, para los demás ensayos evidenciamos una baja solubilidad, y en la bencina que no es soluble.

Tabla 7 Determinación de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de Croton elegans (Mosquera).

Croton elegans (Mosquera)		
Tubo	Solvente	Resultado
N°1	Agua	(+++) CON EMULSION
N°2	Solución fisiológica	(++)
N°3	Etanol 40°	(+++)
N°4	Etanol 70°	(+++)
N°5	Etanol 90°	(+++)
N°6	Ácido clorhídrico	(+++)
N°7	Hidróxido de potasio	(++)
N°8	Acetona	(+)
N°9	Anhidrido acético	(+)
N°10	Cloroformo	(+)
N°11	Bencina	(-)

Leyenda: (-) No es soluble, (+) baja solubilidad, (++) mediana solubilidad, (+++) alta solubilidad

La tabla 7 nos muestra la alta solubilidad de Mosquera en agua, en SSF donde presenciamos una mediana solubilidad, en todos los solventes de alcohol utilizados se vio la presencia de alta solubilidad, al realizar el ensayo con el HCl presenta alta solubilidad, para los demás ensayos evidenciamos una baja solubilidad, y en la bencina que no es soluble.

## 3.3 Tamizaje fitoquímico del extracto de tallos menores, hojas de *Polygala* sp (Canchalagua) y hojas de *Croton elegans* (Mosquera).

Tabla 8 Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de tallos menores, hojas de Polygala sp (Canchalagua).

TUBO	REACTIVO	METABOLITO	RESULTADO
N°1	Etanol 70° + 5gts de HCl	Alcaloides	(-)
N°2	FeCl3 + Etanol 70°	Compuestos fenólicos	(++)
N°3	Rvo. Shinoda + Etanol 70°	Flavonoides	(+)
N°4	Rvo. Bortranger +	Quinonas	
	Cloroformo		(++)
N°5	Gelatina sal + Etanol 70°	Taninos	(-)
N°6	Agua	Saponinas	(+++)
N°7	Lieberman burchard + Acido	Esteroides, triterpenos	
	sulfúrico puro		(-)
N°8	Salkowsky Ácido sulfúrico	Esteroides	
	puro		(+++)

Leyenda: (-) No hay presencia, (+) baja presencia, (++) moderada presencia, (+++) abundante presencia

En la tabla 8 se muestra el resultado del análisis fitoquímico donde se evidencio que los componentes fitoquímicos desde un punto de vista cualitativo, hay abundante presencia de saponinas y esteroides, esto se da porque las saponinas tienen un núcleo esteroidal, luego hay una moderada presencia de quinonas, algunos compuestos fenólicos, no se presentan alcaloides y una baja presencia de flavonoides.

Tabla 9 Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico hojas de Croton elegans (Mosquera).

TUBO	REACTIVO	METABOLITO	RESULTADO
N°1	Etanol 70° + 5gts de HCl	Alcaloides	(-)
N°2	FeCl3 + Etanol 70°	Compuestos fenólicos	(++)
N°3	Rvo. Shinoda + Etanol 70°	Flavonoides	(+)
N°4	Rvo. Bortranger +	Quinonas	
	Cloroformo		(+++)
N°5	Gelatina sal + Etanol 70°	Taninos	(-)
N°6	Agua	Saponinas	(+)
N°7	Lieberman burchard + Acido	Esteroides, triterpenos	
	sulfúrico puro		(-)
N°8	Salkowsky Ácido sulfúrico	Esteroides	
	puro		(+++)

Leyenda: (-) No hay presencia, (+) baja presencia, (++) moderada presencia, (+++) abundante presencia

En la tabla 9 se muestra el resultado del análisis fitoquímico donde se evidencio que los componentes fitoquímicos desde un punto de vista cualitativo, hay abundante presencia de quinonas, abundante presencia de esteroides, pero no son triterpenos y también una baja presencia de saponinas y una moderada presencia de compuestos fenólicos.

#### 3.4 Ensayo microbiológico de acuerdo a la metodología de Kirby Bauer

# Tabla 10 Halos de inhibición del ensayo microbiologico del extracto hidroalcohólico de Polygala sp (Canchalagua) y hojas de Croton elegans (Mosquera) frente a Staphylococcus aureus (ATCC:25923).

	SEMBRADO	PLACA 1	PLACA 2	PLACA	3 PROMEDIO	E.DURAFFOURD	
5% DE C Y 6.25% M	<b>C</b> 1	8MM	7.6MM	8.3MM	7.97 MM	(-)	
5% DE C Y 12.5% M	C2	9.4MM	9MM	10.4MM	9.6 MM	(+)	
5% DE C Y 20% M	C3	10.4MM	11MM	10.4MM	10.6MM	(+)	
10% DE C Y 6.25 M	C4	13.5MM	13MM	12.4MM	12.97MM	(+)	
10% DE C Y 12.5% M	C5	12MM	12MM	12.5MM	12.17MM	(+)	
10% DE C Y 20% M	C6	11MM	10MM	10MM	10.33MM	(+)	
20% DE C Y 6.25% M	<b>C</b> 7	14.5MM	13MM	13MM	13.5MM	(+)	
20% DE C Y 12.5% M	C8	12.4MM	11.4MM	11.4MM	11.73MM	(+)	
20% DE C Y 20% M	C9	12MM	10.4MM	11.4MM	11.27MM	(+)	
	C+	Ampicilina 10 μg			40 mm	(+++)	
	C-	NaCl (Cloruro de sodio)			6mm	(-)	

#### Referencia a la escala de Duraffourd

- Nula (-) si es menor o igual a 8mm
- Sensible (+) de 9 a 14 mm
- Muy sensible (++) de 15 a 20mm
- Sumamente sensible (+++) mas de 20mm

Tabla 11 Análisis de la primera tabla de varianza (ANOVA).

Effect Estimates; Var.:Halo\_Inhibicion; R-sqr=.86446; Adj:.63856 (3\*\*(2-0) full factorial design, 1 block, 9 runs (Spreadsheet1) in Davila Villanueva) 2 3-level factors, 1 Blocks, 9 Runs; MS Residual=1.071256 DV:

Halo\_Inhibicion

	Effect	Std.Err.	t(3)	р	-95.% - Cnf.Lim t	+95.% - Cnf.Lim t	Coeff.	Std.Err. - Coeff.	-95.% - Cnf.Lim t	+95.% - Cnf.Lim t
Mean/Interc.	11.1266 7	0.34500 5	32.2507 5	0.00006 6	10.0287 1	12.2246 3	11.1266 7	0.34500 5	10.0287 1	12.2246 3
(1)Canchalagua( L)	2.77667	0.84508 6	3.28566	0.04622 9	0.08723	5.46611	1.38833	0.42254 3	0.04361	2.73305
Canchalagua(Q)	1.04500	0.73186 6	1.42786	0.24863 3	- 1.28412	3.37412	0.52250	0.36593 3	- 0.64206	1.68706
(2)Mosquera(L)	- 0.74667	0.84508 6	- 0.88354	0.44201 2	- 3.43611	1.94277	- 0.37333	0.42254 3	- 1.71805	0.97139
Mosquera(Q)	0.06000	0.73186 6	0.08198	0.93982 4	- 2.26912	2.38912	0.03000	0.36593 3	- 1.13456	1.19456
1L by 2L	- 2.43000	1.03501 5	- 2.34779	0.10050 7	- 5.72388	0.86388	- 1.21500	0.51750 7	- 2.86194	0.43194

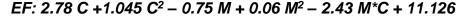
En la tabla 11 se observan los resultados del primer ANOVA, vemos los efectos numéricos que aportan cada componente, en ese sentido como es una mezcla de dos plantas se considera un modelo cuadrático, consideramos el efecto de asenso exponencial por cada cambio de unidad de concentración de cada planta como su efecto lineal, luego la combinación de uno con otro separado fuera de la intersección principal, la intersección principal es el resultado de un ANOVA unifactorial básicamente me dice que por separado funcionaria las plantas con un P menor que 0.05 en pocas palabras es significativo.

Observando el efecto lineal de canchalagua dentro del modelo combinatorio, el modelo cuadrático de canchalagua dentro del modelo combinatorio, el modelo lineal o el aporte de Mosquera dentro del modelo combinatorio, el efecto cuadrático de Mosquera dentro del efecto combinatorio, luego la combinación lineal de una planta con otra básicamente el aporte en conjunto y no separado dentro del modelo combinatorio. Como referencia a la ecuación se describen los datos de acuerdo al siguiente detalle:

- 2.78 veces la concentración lineal de Canchalagua.
- 1.045 veces la concentración cuadrática de Canchalagua.

- 0.75 El aporte lineal de Mosquera es negativo en el modelo combinatorio la Mosquera resta efecto farmacológico en vez de aportar a la ecuación.
- 0.06 aporte pequeño de concentración cuadrática de Mosquera.
- 2.43 un aporte negativo y es uno de los índices más fuertes que hay de la combinación de Mosquera y Canchalagua juntos.
- 11.126 es el halo de inhibición mínimo del efecto natural que ha obtenido cada planta, la intersección del modelo individual de cada uno, que es significativo del efecto lineal de cada planta.

En ese sentido podemos establecer el efecto farmacológico como una ecuación como en este ejemplo.



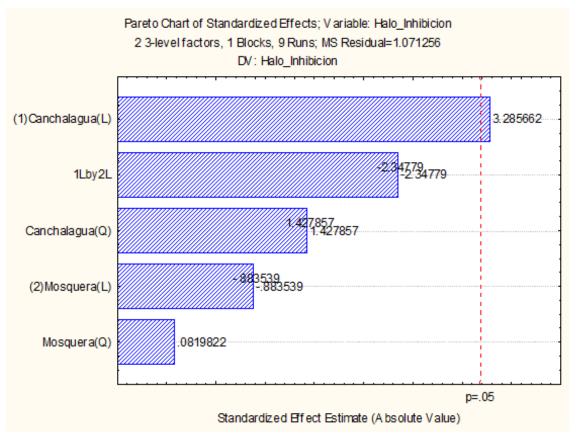


Figura 1 Diagrama de Pareto Estandarizado del primer ANOVA

En esta figura 1 vemos el ordenamiento de efetos en un diagrama de Pareto donde se evidencia el efecto lineal de canchalagua donde es el único que traspasa el efecto significativo que es de P= 0.05, los demás no llegan a conseguir el efecto significativo.

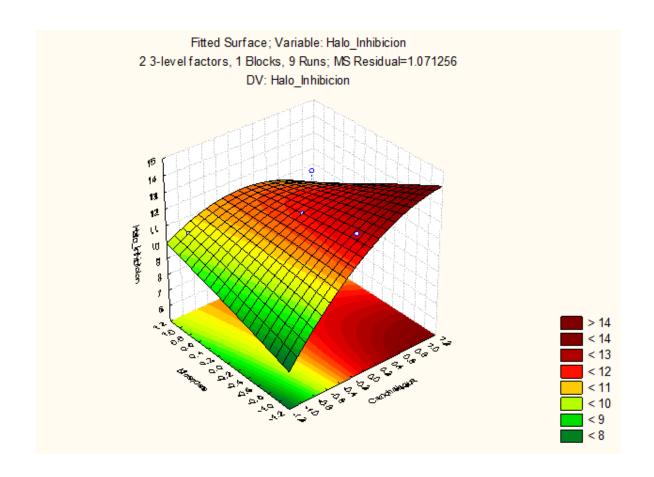


Figura 2 Grafico de superficie respuesta del primer ANOVA.

De esta forma en el gráfico 2 de superficie o respuesta, por una parte tenemos la concentración crecientes de Canchalagua y las concentraciones crecientes de Mosquera, en los extremos de las esquinas tenemos la mayor concentración de Canchalagua y en la arista del centro tenemos los menores valores de Canchalagua y Mosquera a la vez, y con el eje Z tenemos la mayor concentración de Mosquera, mientras más pequeña la concentración de Mosquera es menos el efecto antibacteriano, por eso es mucho más bajo, observada por el color verdoso, pero mientras más rojo es más fuerte el efecto antibacteriano y curiosamente el color rojo y la altura más elevada de la superficie se dan a la tendencia de la mayor concentración de Canchalagua y curiosamente incrementan mientras va disminuyendo al concentración de Mosquera ósea es como si la Mosquera estuviera afectando negativamente el efecto de la Canchalagua.

Tabla 12 Análisis de la segunda tabla de varianza (ANOVA).

ANOVA; Var.:Halo\_Inhibicion; R-sqr=.86416; Adj:.72831 (3\*\*(2-0) full factorial design, 1 block, 9 runs (Spreadsheet1) in Davila Villanueva) 2 3-level factors, 1 Blocks, 9 Runs; MS Residual=.8052417 DV: Halo\_Inhibicion

	SS	df	MS	F	р
(1)Canchalagua L+Q	13.74887	2	6.874433	8.537106	0.036026
(2)Mosquera L	0.83627	1	0.836267	1.038529	0.365786
1*2	5.90490	1	5.904900	7.333078	0.053650
Error	3.22097	4	0.805242		
Total SS	23.71100	8			

En la tabla 12 del segundo análisis ANOVA donde hemos eliminando el efecto cuadrático de Mosquera, el efecto cuadrático de Mosquera elimino el efecto menos significativo de todos, entonces de este modelo de cuadrático de Mosquera el 0.06 M² lo elimino, solamente nos quedan los demás factores, hacemos el ANOVA y ahora el efecto L y Q de canchalagua se refuerzan y tienen un nivel de significancia muy fuerte. El efecto lineal de Mosquera ya se acerca a la significancia ha disminuido, pero el efecto combinado de Mosquera y Canchalagua es un efecto negativo, pero poco a poco va llegando al nivel de significancia menor de 0.05. Ahora nos falta eliminar el efecto lineal de Mosquera ósea el aporte individual de Mosquera tanto cuadrático y lineal no tiene ningún sentido en el modelo y al parecer el efecto antibacteriano de la Mosquera no influye en nada más bien influye en la canchalagua, al eliminar el efecto cuadrático nuestra ecuación queda de la siguiente manera:

EF:  $2.78 \text{ C} + 1.045 \text{ C}^2 - 0.75 \text{ M} - 2.43 \text{ M}^*\text{C} + 11.126$ 

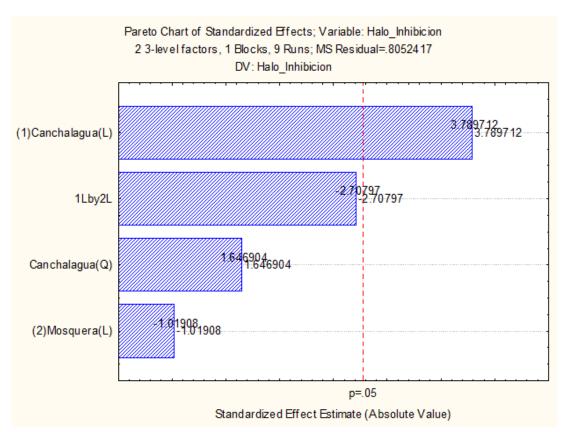


Figura 3 Diagrama de Pareto Estandarizado del segundo ANOVA.

En la figura 3 podemos ver que el efecto de Canchalagua lineal se ha reforzado más, la combinación de Canchalagua y Mosquera ya se acerca al umbral de significancia, también podemos observar que Mosquera lineal es de los últimos de los efectos así que procede a eliminar en el tercer ANOVA.

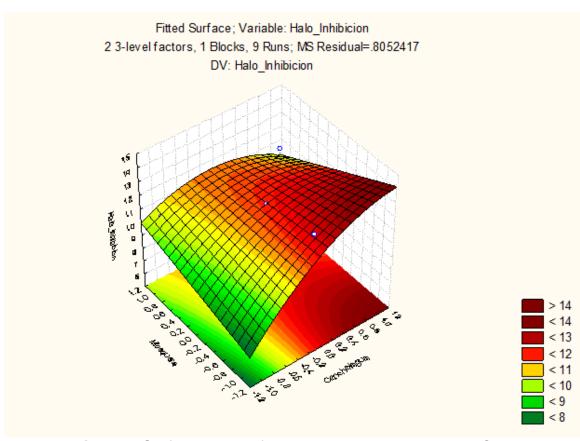


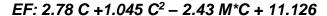
Figura 4 Grafico de superficie respuesta del segundo ANOVA.

En esta nueva grafica de superficie respuesta se puede ver más claramente como la combinación de Mosquera y Canchalagua en sus concentraciones más altas tiende a tener un color verdeoso implica un efecto negativo de la Mosquera en la canchalagua.

Tabla 13 Análisis de la tercera tabla de varianza (ANOVA).

ANOVA; Var.:Halo_Inhibicion; R-sqr=.82889; Adj:.72622 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs (Spreadsheet1) in Davila Villanueva) 2 3-level factors, 1 Blocks, 9 Runs; MS Residual=.8114467 DV: Halo_Inhibicion					
	SS	df	MS	F	р
(1)Canchalagua L+Q	13.74887	2	6.874433	8.471824	0.024783
1*2	5.90490	1	5.904900	7.277003	0.042907
Error	4.05723	5	0.811447		
Total SS	23.71100	8			

Eliminando el efecto individual de la Mosquera: Se elimina el efecto individual de la Mosquera quedando solo el efecto combinado, quedándonos con efectos que tienen mayor cantidad de significancia, En este tercer ANOVA tenemos que canchalagua lineal y cuadrático nuevamente tiene un P valor significativo, ahora el valor de canchalagua y Mosquera 1\*2 ahora si es significativo y así tenemos el modelo refinado. Aquí no se evalúa completamente encontrar efecto significativo, acá tenemos que encontrar en que porcentaje de significancia pueden aportar uno que otro efecto. De esta menera nuestra ecuación farmacológica terminaría siendo la siguiente:



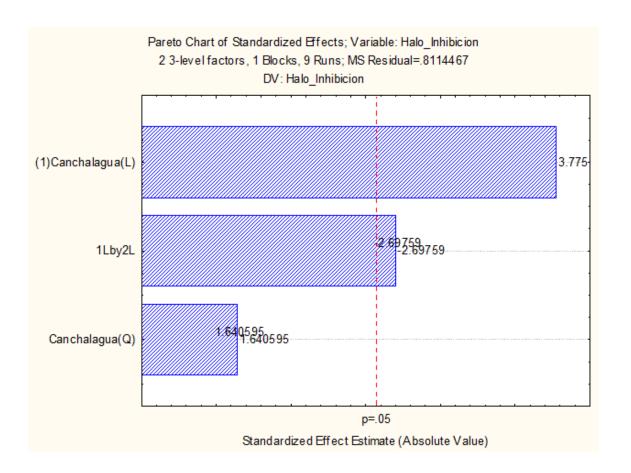


Figura 5 Diagrama de Pareto Estandarizado del tercer ANOVA.

En este último diagrama se puede evidenciar que tanto como canchalagua lineal y la combinación de los mismos paso la barrera de la significancia ahora si Canchalagua y Mosquera.

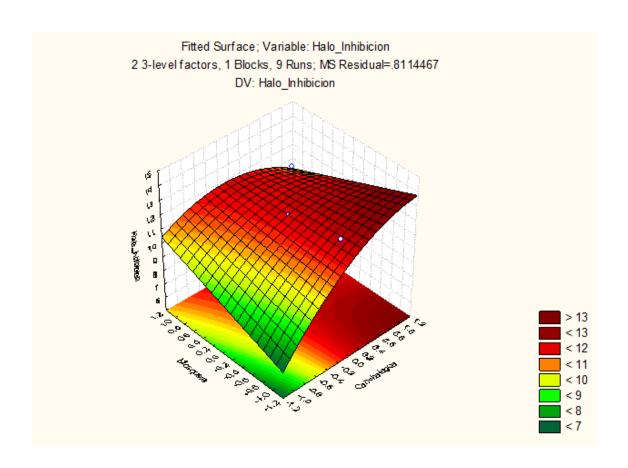


Figura 6 Grafico de superficie respuesta del tercer ANOVA.

Este sería el grafico final donde el efecto del modelo combinado individual de Mosquera tanto cuadrático y lineal no aportando en nada significativo. Pero el efecto lineal de las concentraciones de Mosquera en vez de afectar en el efecto antibacteriano a afectado sobre la Canchalagua, esto podría ser debido a que compuestos químicos en Mosquera han reaccionado en Canchalagua de manera que han inactivado algunos compuestos químicos de la Canchalagua que eran responsables del efecto farmacológico.

#### IV. DISCUSION

#### 4.1 Discusión de resultados:

El presente trabajo de investigación se realizó con el propósito, de determinar el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólicos de *Polygala sp* (Canchalagua) y *Croton elegans* (Mosquera), esta unión de plantas fue para dar un sinergismo para la eficacia farmacológica. Los resultados que se dieron de este trabajo de investigación, se obtuvieron de un proceso de recolección, criterios de inclusión y exclusión, extracción hidroalcohólica, ensayos de solubilidad, tamizaje fitoquímico y evaluación microbiológica del material vegetal estudiado.

En el ensayo de solubilidad se evidencio resultados de las tablas (N°2 y N°3) indican diferencias significativas en el contenido de humedad entre las dos especies vegetales estudiadas: Polygala sp (Canchalagua) y Croton elegans (Mosquera). Donde *Polygala sp* (Canchalagua) en sus tallos menores y hojas presentan un 55% de humedad, este porcentaje es promedio e inclusive un poco baja. Donde Croton elegans (Mosquera) tienen un 35% de humedad, este valor es bajo, lo que indica que las hojas de Croton elegans contienen menos agua en comparación con las partes de Polygala sp, las hojas de Croton elegans podrían haber desarrollado adaptaciones para conservar agua, como cutículas más gruesas o estomas cerrados. Por otro lado, de acuerdo al estudio de Farfán S. et al (2019) (22). Presentaron un porcentaje de humedad de 81.67% Schinus molle "molle" Dicho valor refleja un alto contenido de agua en las hojas, lo que demuestra ser susceptible a la contaminación por agentes microbiológicos (hongos y bacterias). Esta diferencia puede ser por la ubicación geográfica, clima, época de recolección de la planta. Estos resultados permiten tener el mayor cuidado posible en el proceso de secado y estabilizado de la hoja.

Los resultados obtenidos en las tablas N°4 y N°5 muestran los porcentajes de rendimiento del extracto hidroalcohólico según la fórmula empleada. Se analizo que en la Tabla N°4, el rendimiento del extracto hidroalcohólico es del 12.63%, con la cantidad obtenida, se ha determinado la muestra necesaria

para emplearla en los demás ensayos de la investigación, por otro lado, la Tabla N°5, el rendimiento del extracto hidroalcohólico es del 13.16%. De acuerdo con la cantidad obtenida, también se ha determinado la muestra necesaria para emplearla en los demás ensayos de la investigación. Por otro lado, en los estudios realizados por Aparca S, et al. (2023) (23). En su investigación dice que de acuerdo al porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus de molle* es de 17.70%. En base a este resultado se puede deducir que hay poco rendimiento de extracción, es decir por cada 100g de hoja de molle seca se obtiene 17.70 g de extracto seco. Las diferencias en los rendimientos podrían deberse a variaciones en los métodos de extracción, el empleo de poca muestra o la calidad de las materias primas o incluso factores ambientales.

De acuerdo al tamizaje fitoquímico en las tablas 6 y tabla 7 nos muestra una diferencia entre las dos muestras vegetales estudiadas por una parte la *Polygala sp* (Canchalagua) presenta una abundante presencia en saponinas, lo cual nos da la posibilidad de que a eso se deba su efecto antibacteriano, recalcando también su abundante presencia de esteroides en su composición, por otra parte la *Croton elegans* (Mosquera) presenta abundante presencia de quinonas y esteroides pero difiere de la canchalagua ya que no presenta abundancia de saponinas, difiere también en los esteroides ya que la canchalagua presenta triterpenos. Esto concuerda con el estudio de Manrique V, et al. (2022) (24). Donde se observa los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de hojas de *Schinus molle* (molle) donde se evidencio la abundante presencia de saponinas, triterpenos, esteroides y compuestos fenólicos. También se observó en menor proporción quinonas, taninos y flavonoides, así mismo no se observó alcaloides.

Con respecto a la actividad microbiológica del extracto hidroalcohólico de *Polygala sp* (Canchalagua) y *Croton elegans* (Mosquera) en sinergismo mostro un efecto antibacteriano con un halo de inhibición en promedio de 11.126 mm demostrando una sensibilidad antimicrobiana frente a *Stafyloccus Aureus*. En un estudio de investigación realizado por Aroni A. (2018) (25). En su investigación de sinergismo del extracto etanolico de *Opuntia soherensii* 

(ayrampo) Y *Psidium guajava L.* (guayaba), en sinergismo para potenciar su efecto los resultados que obtuvieron en promedio fueron de 8.7mm de halos de inhibición frente a *Stafyloccus Aureus*, sin embargo, los resultados obtenidos para el autor fueron negativos ya que no existe sinergismo debido a que no se evidencia potenciación de los extractos. Esta diferencia de resultados se debe a que la planta *Opuntia soherensii* (ayrampo) presento sensibilidad nula a nivel individual restándole potenciación farmacológica al efecto antibacteriano, a diferencia de *Polygala sp* (Canchalagua) y *Croton elegans* (Mosquera) que ambas mostraron efecto antibacteriano individualmente.

#### V. CONCLUSIONES

- Se determino que el porcentaje de humedad de *Polygala sp* (Canchalagua) es de 55% y *Croton elegans* (Mosquera) es de 35%.
- Se determino que el porcentaje de rendimiento de *Polygala sp* (Canchalagua) es de 12.63% y *Croton elegans* (Mosquera) es de 13.16%.
- Se determino que *Polygala sp* (Canchalagua) es altamente soluble en agua, en alcohol al 40°, 70° y 90° y *Croton elegans* (Mosquera) es altamente soluble en alcohol de 40°,70° y 90° y en Acido Clorhidrico.
- Se determino en el análisis fitoquímico de *Polygala sp* (Canchalagua) tiene abundante presencia de saponinas, esteroides y moderada presencia en compuestos fenólicos y *Croton elegans* (Mosquera) presenta abundante presencia de quinonas y esteroides.
- En conclusión, al trabajo de investigación realizado para determinar el efecto antibacteriano de *Polygala sp* (Canchalagua) y *Croton elegans* (Mosquera) se determinó que no pueden estar juntos en sinergismo, que individualmente si cumplen su función farmacológica, pero en combinación estas dos plantas de acuerdo a la evidencia en los resultados se antagonizan.
- Por otra parte, se concluye así que no dos plantas por tener el mismo efecto farmacológico al tomarse en combinado juntos pueden ofrecer un efecto más reforzado, observando el antagonismo en plantas medicinales.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Inecol centro de investigación especializado de ecología [Internet]. Mexico: centro de investigación de ecologia; c2019-2022 [citado 20 feb 2023].
   Bacterias la otra historia; [aprox. 4 p.]. Available from: <a href="https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/479-bacterias-la-otra-historia">https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/479-bacterias-la-otra-historia.</a>
- La vanguardia Historia y Vida [Internet]. Argentina: Historia y vida; 2018-2019 [citado 20 feb 2023]. 5 enfermedades que cambiaron la historia; [aprox. 3 p.]. Available from: <a href="https://www.lavanguardia.com/historiayvida/mas-historias/20180116/47313779943/5-enfermedades-que-cambiaron-la-historia.html">historia.html</a>
- Nathionalgeographic [Internet]. Estados Unidos: Historia Nationalgeographic; c2022-2023 [citado 20 feb 2023]. Breve resumen de las enfermedades infecciosas mas graves de la historia de la humanidad; [aprox. 7p.]. Available from: <a href="https://www.nationalgeographic.es/ciencia/resumen-las-enfermedades-mas-graves-contagiosas-historia">https://www.nationalgeographic.es/ciencia/resumen-las-enfermedades-mas-graves-contagiosas-historia</a>
- News medical life sciencies [Internet]. Estados unidos: Life sciencies home: c2022-2023 [citado 29 feb 2023]. Staphylococcus Aureus Virulence Factors;[aprox. 4p.]. Available from: <a href="https://www.news-medical.net/health/Staphylococcus-Aureus-Virulence-Factors.aspx">https://www.news-medical.net/health/Staphylococcus-Aureus-Virulence-Factors.aspx</a>
- Oliveira D, Borges A, Simões M. Staphylococcus aureus Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. Toxins (Basel). Pubmed [Internet] 2018 Jun 19 [citado 29 feb 2023];10(6):252. Available from: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29921792/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29921792/</a>
- Kumar M. Multidrug-Resistant Staphylococcus aureus. [Internet] India, 2013-2015. Emerg Infect Dis. 2016 Sep;[Citado 29 feb 2023];22(9):1666-7. Available from: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4994346/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4994346/</a>
- Zambrano L, Buenaño M, Mancera N, Jiménez E. Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. Univ. Salud [Internet]. 26 de

- mayo de 2015 [citado 20 de junio de 2023];17(1):97-111. Available from: https://revistas.udenar.edu.co/index.php/usalud/article/view/2400
- Pan American Health Organization [Internet] Perú: Iris Institutional Repository for information sharing: 19 de marzo de 2019 [citado 20 jun 2023]. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales; [aprox. 2p]. Available from: <a href="https://iris.paho.org/handle/10665.2/50479">https://iris.paho.org/handle/10665.2/50479</a>
- 9. Alvarado V, Moromi H. Plantas medicinales: efecto antibacteriano in vitro de Plantago major L, Erythroxylum novogranatense, Plowman var truxillense y Camellia sinensis sobre bacterias de importancia estomatológica. Odontol Sanmarquina. 2010; 13(2): 21-25. Available from: <a href="https://www.researchgate.net/publication/307144077">https://www.researchgate.net/publication/307144077</a> Plantas medicinale s Efecto antibacteriano in vitro de Plantago major L Erythroxylum no vogranatense Plowman var truxillense y Camellia sinensis sobre bact erias de importancia estomatologica
- 10. Pabón L, Rodríguez M, Hernández P. Plantas medicinales que se comercializan en Bogotá (Colombia) para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 2017;[citado 20 jun 2023] 16 (6): 529 46. Available from: <a href="https://www.redalyc.org/pdf/856/85653615002.pdf">https://www.redalyc.org/pdf/856/85653615002.pdf</a>
- 11. Pan American Health Organization [Internet] Perú: Iris Institutional Repository for information sharing: 19 de marzo de 2019 [citado 20 jun 2023]. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales; [aprox. 2p]. Available from: https://iris.paho.org/handle/10665.2/50479
- 12. Kapital inteligente [Internet]. España: Antibiogramas, pruebas de sensibilidad microorganismos, Pruebas de sensibilidad de microorganismos o antibiograma; 2021 - [actualizado el 10 de febrero de 2021; citado el 20 de junio de 2023]. Available from: <a href="https://www.kapitalinteligente.es/antibiogramas-pruebas-de-sensibilidad-microorganismos/">https://www.kapitalinteligente.es/antibiogramas-pruebas-de-sensibilidad-microorganismos/</a>
- 13. Correa C. Efecto Antibacteriano De La Algarrobina De Prosopis Pallida Sobre Escherichia Coli Y Staphylococcus Aureus. [Tesis de Doctorado]. Lima: Universidad San Martin de Porres; 2021. Available from:

- https://repositorio.usmp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12727/8778/corre a\_cea.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 14. Alfaro R, Chachaque J. Efecto Antibacteriano In Vitro Del Extracto Etanólico Del Epicarpio De Persea Americana (Palta) Frente A Cepas De Staphylococcus aureus ATCC 25923. [Tesis de Licenciatura]. Lima: Universidad Maria Auxiliadora; 2023. [citado 2024 Abr 28] Available from: <a href="https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1815/TESIS%20ALFARO-%20CHACHAQUE.pdf?sequence=1&isAllowed=y">https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1815/TESIS%20ALFARO-%20CHACHAQUE.pdf?sequence=1&isAllowed=y</a>
- 15. Tenorio S, Muñoz C. Actividad Antibacteriana In Vitro Del Aceite Esencial De Las Hojas De Eugenia Stipitata Mcvaugh (Arazá) Frente A Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Salmonella enterica sv Enteritidis. [Tesis de Licenciatura]. Lima: Universidad Maria Auxiliadora; 2020. [citado 2024 Abr 28] Available from: <a href="https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/334/ACTIVIDAD%20ANTIBACTERIANA%20in%20vitro%20DEL%20ACEITE%20ESENCIAL%20DE%20LAS%20HOJAS%20DE%20Eugenia%20stipitata%20McVaugh%20%28araz%c3%a1%29%20FRENTE%20A%20Staphylococcus%20aureus%2c%20Escheric.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 16. Castro C, Ayasta J, Santa Cruz C, Carrasco F, Moreno M. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Annona muricata sobre microorganismos de importancia clínica. Gac Med Bol [Internet]. 2021 Jun [citado 2024 Abr 28]; 44(1): 29-33. Available from: <a href="http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1012-29662021000100005&lng=es">http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1012-29662021000100005&lng=es</a>
- 17. Morales A, Hernández J, Valladares B, Velázquez V, Delgadillo L, Rosenfeld C. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico Croton draco sobre bacterias de importancia sanitaria. Scielo [Intenet]. 2020 Dic [citado el 28 de abril del 2024]; 10: e1. Available from: <a href="http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S2448-61322020000100101&lng=es doi: https://doi.org/10.21929/abavet2020.2.">https://doi.org/10.21929/abavet2020.2.</a>
- 18. Rivero N, Prieto J, Hernández A, Zaragoza A, Madariaga A. Efecto antihelmíntico y antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de Kalanchoe daigremontian. Scielo [Internet]. 2022 Diciembre [citado el 28 de abril del 2024] ; 12: 102. Available from:

- http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S2448-61322022000100102&lng=es\_doi: https://doi.org/10.21929/abavet2022.1.
- 19. Del Carpio C. Estudio fitoquímico cualitativo, actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de Barberis boliviana lechler (Ch'eqche) en un modelo experimental inducido químicamente por por pentilentetrazol en animales de experimentación. [Tesis de Licenciatura] Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco. [citado 2024 Abr 28] Available from: <a href="http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/930?show=full&locale-attribute=en">http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/930?show=full&locale-attribute=en</a>
- 20. Silva F, Luicho J. Efecto Diurético Del Extracto Hidroalcohólico De Las Hojas De Baccharis Chilco Kunth (Taya), En Ratas Albinas. [Tesis de Licenciatura] Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega. [citado 2024 Abr 28] Available from: <a href="http://intra.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/5226/TESIS SILV-A%20VEGA%20%20LUICHO%20SOL%C3%93RZANO.pdf?sequence=1">http://intra.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/5226/TESIS SILV-A%20VEGA%20%20LUICHO%20SOL%C3%93RZANO.pdf?sequence=1</a>
  &isAllowed=y
- 21. Herrera ML. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. Rev médica Hosp nac niños Dr. Carlos Saenz Herrera [Internet]. 1999 [citado el 30 de abril de 2024];34:33–41. Available from: <a href="https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1017-85461999000100010">https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1017-85461999000100010</a>
- 22. Farfan S, Huarhuachi D. Evaluación de actividad analgésica y antiinflamatoria de una crema elaborada a base de aceite esencial de schinus molle "molle" en animales de experimentación. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Nacional San Antonio de Abad. Cuzco. 2019. [citado el 30 de abril de 2024]. Available from: <a href="https://repositorio.unsaac.edu.pe/browse?type=author&value=Farfan+Hancco%2C+Sulma+Lucia+Cornelia">https://repositorio.unsaac.edu.pe/browse?type=author&value=Farfan+Hancco%2C+Sulma+Lucia+Cornelia</a>
- 23. Aparca J, Sanchez Y. Efecto Antiinflamatorio De Una Crema Topica Con Extracto Hidroalcoholico De Molle (Schinus Molle) Y Cloruro De Magnesio. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Maria Auxiliadora. Lima 2023. [citado el 30 de abril de 2024]. Available from: <a href="https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1986/TESI">https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1986/TESI</a>

#### S%20APARCANA-S%c3%81NCHEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- 24. Manrique V, Pariona L. Análisis farmacognostico y elaboración de un gel a partir de las hojas Schinus molle (Molle) y Pipper aduncum (Matico) de las provincias de Barranca, Lima y Ocros, Ancash-2022. [Tesis de licenciatura]. Universidad María Auxiliadora; 2023. [citado el 30 de abril de 2024].

  Available from:

  <a href="https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1803/TESIS%20MANRIQUE-PARIONA.pdf?sequence=1&isAllowed=y">https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1803/TESIS%20MANRIQUE-PARIONA.pdf?sequence=1&isAllowed=y</a>
- 25. Aroni M. Sinergismo antimicrobiano de los extractos Etanólicos del Opuntia Soherensii (ayrampo) y Psidium Huajava L. (guayaba), frente a Staphilococcus Aureus y Listeria Monocytogenes. [Tesis de licenciatura]. Universidad Alas Peruanas; 2018. [citado el 30 de abril de 2024]. Available from: <a href="https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/6897">https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/6897</a>

# **ANEXOS**

# Anexo A. Operacionalizacion de variables.

V. INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	NATURALEZA	MEDIDA	ESCALA DE MEDICION	INDICADORES	UNIDADES DE MEDIDA
Extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de Polygala sp(Canchalagua) y	Cantidad total administrada de los preparados concentrados de los constituyentes activos de las drogas crudas, obtenidas mediante extraccion.	Prueba de Solubilidad	Cualitativo	Directa	Nominal	Soluble e insoluble	soluble (+) insoluble (-)
Cròton elegans (Mosquera).		Tamizaje Fitoquimico	Cualitativo	Directa	Nominal	metabolitos primarios, metabolitos secundarios	(-) Ausente (+) Leve (++) Moderado (+++) Abundante
V. DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	NATURALEZA	MEDIDA	ESCALA DE MEDICION	INDICADORES	UNIDADES DE MEDIDA
Efecto antibacteriano en cepas de Staphylococcus aureus	Capacidad de una sustancia de naturaleza sintética y/o natural exógena que tiene la capacidad de disminuir o inhibir el crecimiento de células procariotas como las Staphylococcus aureus	Microbiología	Cuantitativo	Directa	De intervalo	Medida del Tamaño de los halos de inhibición	mm

#### Anexo B. Fichas de recolección de datos.

# PORCCENTAJE DE RENDIMIENTO DE EXTRACCION DE ESPECIE DE Polygala sp (Canchalagua) y Croton elegans (Mosquera)

FECHA:

**TIPO DE EXTRACTO:** 

PESO TARA (PT):

PESO TARA + MUESTRA ESTABILIZADA (PTME):

PESO MUESTRA ESTABILIZADA (PME):

PESO DE TARA + EXTRACTO SECO (PTES):

% EXTRACCION = (PTES) - (PTM) X100%

(PTME)-(PTM)

#### PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DE LOS EXTRACTOS DE Polygala sp (Canchalagua) y Croton elegans (Mosquera)

FECHA:

TIPO DE EXTRACTO: HIDROALCOHOLICO

PRUEBAS DE SOLUBILIDAD				
EXTR	ACTO:	FECHA:		
SOLVENTE	T° A	T° 37° C		
Agua Destilada				
Solución Salina fisiológica				
Hidróxido de Sodio 0.1 N				
Acido Clorhídrico 0.1 N				
Etanol 40%				
Etanol 70%				
Etanol 90%				
Acetona				
Anhídrido Acético				
Cloroformo				
Bencina				

#### Leyenda:

- : Insoluble

+ : Ligeramente soluble ++ : Parcialmente soluble +++ : Totalmente soluble

#### **OBSERVACIONES**

# ANEXO 6 <u>ESTUDIO FITOQUIMICO CUALITITATIVO DE LOS EXTRACTO DE Polygala sp</u> (Canchalagua) y Croton elegans (Mosquera) ENSAYOS GENERALES

#### **FECHA:**

#### **TIPO EXTRACTO:**

METABOLITO SECUND	Extracto seco Hidroalcohólico	
ALCALOIDES	Draguendorff	
COMPUESTOS FENOLICOS	FeCl3	
FLAVONOIDES	Shidona	
TANINOS	Gelatina-sal	
ESTEROIDES Y/O	Lieberman	
TRITERPENOS	Burchard	
QUINONAS	Borntrager	
SAPONINAS	Generación de	
	espuma	

#### **LEYENDA:**

- : Ausencia del metabolito

+ : Leve presencia del metabolito++ : Moderada presencia del metabolito+++ : Intensa presencia del metabolito

#### **OBSERVACIONES:**

#### Anexo C. Procedimiento de recoleccion de datos.

 Fotografías del lugar de recolección y selección del material vegetal Polygala sp (Canchalagua) y Croton elegans (Mosquera).









 Proceso de maceración y obtención de los extractos de Polygala sp (Canchalagua) y Croton elegans (Mosquera).









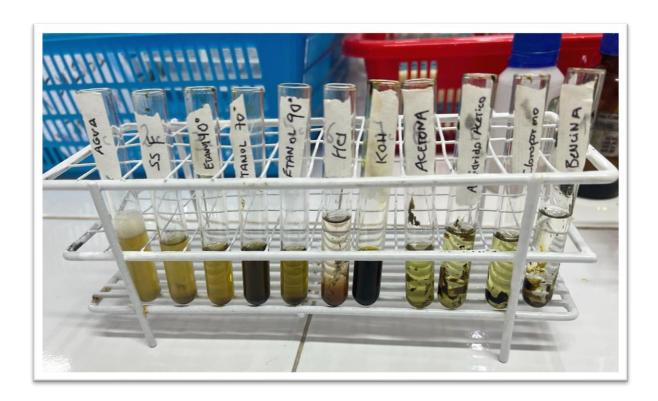




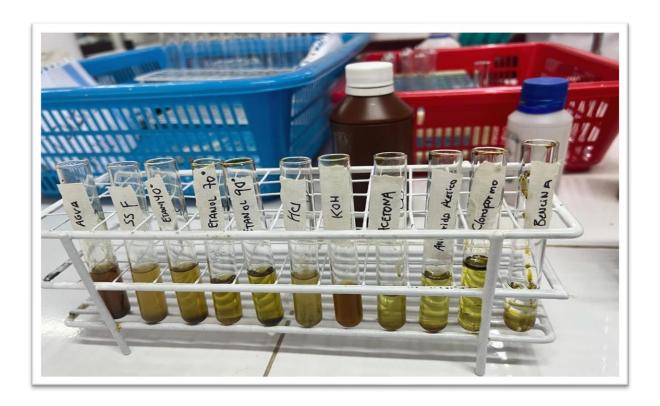




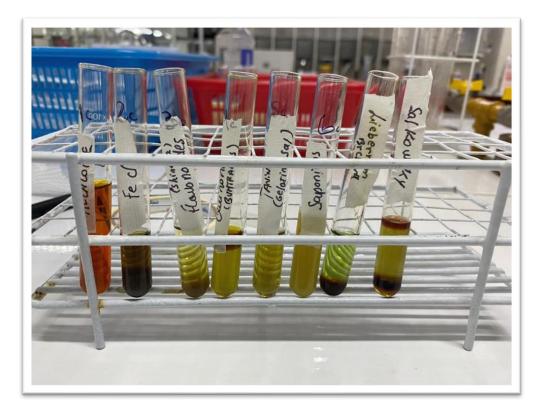
• Prueba de solubilidad de Polygala sp (Canchalagua)



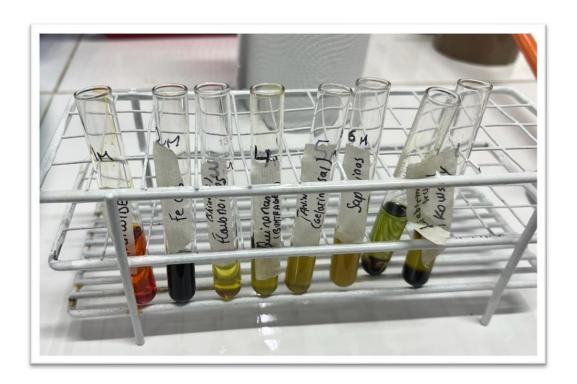
• Prueba de solubilidad de *Croton elegans* (Mosquera).



Tamizaje fitoquímico de Polygala sp (Canchalagua).



• Tamizaje fitoquímico de *Croton elegans* (Mosquera).



 Actividad antibacteriana e los extractos de Polygala sp (Canchalagua) y Croton elegans (Mosquera).

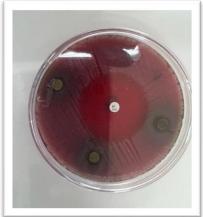












#### Anexo D. Certificado de clasificación taxonómica.





#### UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

#### MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la commemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

#### CONSTANCIA Nº 051-USM-MHN-2024

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

La muestra vegetal (fertil) recibida de Brian Benhamin Villanueva Cotrina, egresado de la Universidad Marta Auxiliadora ha sido estudiada y clasificada como: *Polygala sp* - y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN: Fabales Bromhead

FAMILIA: Polygalaceae Hoffmanns. & Link

GÉNERO : Polygala L. ESPECIE : Polygala sp

Nombre vulgar: "Cancha lagua"

Procedencia: Cajamarca

Determinado por: Bach. Julio Torres.

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

conveniente.

Lima, 19 de marzo de 2024

Dra Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



#### UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (Universidad del Pert, DECANA DE AMÉRICA) MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la commemoración de las heroicas batallas de Junin y Ayacucho"

#### CONSTANCIA Nº 052-USM-MHN-2024

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

La muestra vegetal (fértil) recibida de Brian Benhamin Villanueva Cotrina, egresado de la Universidad Maria Auxiliadora ha sido estudiada y clasificada como: Croton sp - y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN: Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl

FAMILIA: Euphorbiaceae Juss.

GÉNERO : Croton L. ESPECIE : Croton sp

Nombre vulgar: "Mosquera" Procedencia: Cajamarca

Determinado por: MSc. Hamilton Beltran Santiago

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

Lima, 19 de marzo de 2024

Dra Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús Maria, Lima, Perú Código postal Lima 15072 Celular: +51 947 245 652 Lunes a Viernes 8:00 - 15:45 e-meil: herberiousm@unmen.edu.pe https://museohn.unmen.edu.pe/herberio.html

# Anexo E. Certificado de la Cepa ATCC.