

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



Efecto antibacteriano de *Oenothera rosea L* "Chupasangre"
frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*
pneumoniae y *Escherichia coli*

Tesis para obtener el Título de Químico Farmacéutico

Autores:

Br. Díaz Montenegro Nery

Br. Crisanto Aguilar Hensy Omar

Asesor:

Dr. Camones Maldonado Rafael Diomenes

CHIMBOTE – PERÚ

2019

i.-Palabras clave: *Oenothera rosea L*, *Efecto antibacteriano*.

Tema	Efecto antibacteriano de <i>Oenothera rosea L</i>
Especialidad	Farmacología.

Keywords

Subject	Antibacterial effect of <i>Oenothera rosea L</i>
Speciality	Pharmacology.

Línea de Investigación	Recursos naturales terapéuticos y Fitoquímica.
Área	Ciencias médicas y de salud.
Subarea	Medicina básica.
Disciplina	Medicina química.

ii.- Título

Efecto antibacteriano de *Oenothera rosea* L " Chupasangre" frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*.

iii.- Resumen

En la actualidad el uso irracional de los antimicrobianos ha contribuido a la diseminación de microorganismos que son resistentes a drogas de primera línea, de bajo costo y efectivos. La OMS clasifica, según la resistencia antibiótica, a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, como prioridad crítica, elevada y media respectivamente.

Posee efecto antibacteriano el *Oenothera rosea* L "Chupasangre" frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*.

OBJETIVO: Comprobar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Oenothera rosea* L "Chupasangre" en cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli* y *Streptococcus pneumoniae* proporcionadas por el laboratorio COLECBI S.A.C. – Nuevo Chimbote.

MÉTODOS: Para ello emplearemos los Métodos experimentales: **1.** Método de Kirby-Bauer (método de difusión en agar), de dosis gradual para evaluar el efecto antibacteriano, de cada extracto de chupasangre frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia Coli* proporcionadas por el laboratorio COLECBI S.A.C. – Nuevo Chimbote. **2** Para el análisis fitoquímico e identificación de metabolitos secundarios se empleará el método de Olga Lock. **3** el método de cromatografía en capa fina (TLC). Y **4** Para la obtención del extracto se utilizarán el método de percolación, filtración, concentración en rota vapor efecto antibacteriano.

Palabras clave: *Oenothera rosea* L, *Efecto antibacteriano*

iv.- Abstract

Currently, the irrational use of antimicrobials has contributed to the spread of microorganisms that are resistant to first-line, low-cost and effective drugs. WHO classifies, according to antibiotic resistance, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*, as critical, high and medium priority respectively.

Oenothera rosea L "Chupasangre" has antibacterial effect against strains of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Escherichia coli*.

OBJECTIVE: To verify the in vitro antibacterial effect of the extract of *Oenothera rosea* L "Chupasangre" in strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli* and *Streptococcus pneumoniae* provided by the COLECBI S.A.C. - New Chimbote.

METHODS: For this we will use the experimental methods: 1. Kirby-Bauer method (agar diffusion method), of gradual dose to evaluate the antibacterial effect, of each bloodsucker extract against strains of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Escherichia Coli* provided by the COLECBI SAC laboratory - New Chimbote. 2 Olga Lock's method will be used for phytochemical analysis and identification of secondary metabolites. 3 the thin layer chromatography (TLC) method. And 4 The method of percolation, filtration, concentration in broken steam antibacterial effect will be used to obtain the extract.

Key words: Antibacterial effect of *Oenothera rosea* L.

ÍNDICE	Pag
Palabras clave:.....	i
Título.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
Introducción.....	1
Antecedentes y fundamentación científica.....	2
Justificación de la investigación.....	12
Problema general.....	13
Marco Referencial.....	13
Hipótesis.....	14
Objetivos.....	14
Objetivo general:.....	14
Objetivos Específicos:.....	15
Metodología.....	15
Tipo y diseño de investigación.....	15
Población y muestra.....	16
Técnicas e instrumentos de investigación:.....	17
Obtención del extracto de <i>Oenothera L</i> "Chupasangre"......	17
Obtención del extracto seco de <i>Oenothera L</i> "Chupasangre".....	18
Método de Kirby- Baver o de difusión.....	21
Resultados.....	23
Análisis y discusión.....	26
Conclusiones.....	27
Recomendaciones.....	27
Agradecimiento.....	28
Referencias bibliográficas.....	29
Anexos y apéndices.....	32

I. Introducción

La mayor parte de infecciones por *Staphylococcus aureus* que la población adquiere son cepas portadas de la piel representando el diagnóstico dermatológico más frecuente y la forma más común es el impétigo (80%). Dado la alta prevalencia e incidencia de infecciones por esta bacteria piógena y del empleo de tratamientos estandarizados se viene presentando una elevada resistencia.

La *Oenothera rosea* o hierba del golpe, es una planta usada comúnmente como cataplasma en el tratamiento de traumatismos de partes blandas e infecciones superficiales de la piel, así como también para el control de dolor en casos de reumatismo, ciática y dolores musculoesqueléticos. Las partes más usadas de la planta son las hojas, pero también los tallos y las flores. Sin embargo, de manera tradicional se emplea localmente para el tratamiento de heridas infectadas superficiales, producidas por estafilococos y estreptococos, observadas comúnmente en comunidades alejadas de los centros urbanos y desprovistos de una cobertura básica de salud.

1.1 Antecedentes y fundamentación científica.

1.1.1. Antecedentes

Márquez, Y. et al (2018) El género *Oenothera* consta de 145 especies de hierbas que se usaron para tratar las afecciones de la piel, diabetes mellitus, problemas renales y hepáticos, y como medicamentos antidiarreicos y antiinflamatorios, entre otros. Se ha informado que la variedad es grande cuando nos referimos a compuestos químicos del género *Oenothera*, entre ellos los taninos, flavonoides, esteroides, carbohidratos y lípidos. Este estudio se centró en investigar el efecto de diferentes extractos de *Oenothera rosea* L' Hér. Parte aérea ex Ait (de agua, etanol, metanol, acetato de etilo, cloroformo y hexano) sobre el contenido total de flavonoides y compuestos fenólicos; asimismo el análisis de sus actividades antioxidantes, analgésicas y antiinflamatorias. La acción antioxidante se realizó considerando la competencia de los extractos para eliminar los radicales libres DPPH • mientras que las actividades analgésicas y antiinflamatorias de la mayoría de los extractos potentes se evaluaron mediante el reflejo de retorcimiento del ácido acético, los modelos de formación de granulomas inducidos por gránulos de placa caliente y algodón, respectivamente. Los extractos de metanol, etanol y acetato de etilo mostraron un alto contenido de compuestos fenólicos, siendo el etanol el mejor disolvente para la extracción de flavonoides (28.84 ± 0.46 mg de flavonoides / g de extracto). La mayor acción antioxidante se observó con los extractos de metanol, hexano y acetato de etilo (89.51 ± 0.38 , 89.42 ± 0.42 y $89.05 \pm 0.34\%$, respectivamente). Los extractos de etanol y acetato de etilo mostraron una actividad analgésica con porcentajes de inhibición de los parámetros evaluados de más del 50%. El extracto de acetato de etilo regula a la baja la inflamación crónica sin inducir daño gastrointestinal. Estos hallazgos proporcionan evidencia científica de *Oenothera rosea* L.

Calva, N. et al. (2018), *Oenothera rosea* es una especie tradicionalmente utilizada en el tratamiento de la inflamación, dolor de cabeza, dolor de estómago, infecciones, entre otros. Este estudio tuvo como finalidad aclarar la labor antiinflamatoria aguda del extracto acuoso de *O. rosea* por colitis la cual se induce por ácido 2,4,6-trinitrobenceno sulfónico (TNBS). Las ratas fueron asignadas al azar en seis grupos: (I) Falsa; (II) EtOH; (III) TNBS; y (IV – VI) 250, 500 y 750 mg / Kg, respectivamente. La lesión del colon se indujo (grupos III-VI) por instilación intrarrectal de 0,25 ml de TNBS (10 mg) en etanol al 50%. Los grupos I y II recibieron un enema (0,25 ml) de solución salina fisiológica o etanol al 50%, respectivamente. Los tratamientos se administraron por sonda oral 48, 24 y 1 h antes y 24 h después de la inducción. La respuesta inflamatoria se evaluó considerando el daño macroscópico y microscópico, el óxido nítrico del suero (NO), los niveles colónicos de IL-1 y la actividad de la mieloperoxidasa (MPO). Además, realizamos un perfil de metabolitos basado en LC-MS y un acoplamiento en el MPO. Las dosis de 500 y 750 mg / kg mostraron un efecto protector en el daño colónico inducido por TNBS. Esta actividad estuvo relacionada con la regulación a la baja de los parámetros evaluados. Además, considerando informes anteriores, se seleccionaron 29 metabolitos de 91 detectados para el acoplamiento, de los cuales el ácido isolimónico (29) y el Kaempferol 3- (2 ", 4 " diacetilrhamnoside) (10) mostraron la mayor afinidad por MPO. El extracto acuoso de *O. rosea* protegió el daño colónico inducido por TNBS en ratas, un efecto que podría estar asociado con la presencia de compuestos polifenólicos, alcaloides y terpenos; así como su capacidad para regular a la baja la actividad de MPO. y la actividad de la mieloperoxidasa (MPO). Además, realizamos un perfil de metabolitos basado en LC-MS y un acoplamiento en el MPO. Las dosis de 500 y 750 mg / kg mostraron un efecto protector en el daño colónico inducido por TNBS. Esta actividad estuvo relacionada con la regulación a la baja de los parámetros evaluados. Además, considerando informes anteriores, se seleccionaron 29 metabolitos de 91 detectados para el acoplamiento, de los

cuales el ácido isolimónico (29) y el Kaempferol 3- (2 ", 4 " diacetilrhamnoside) (10) mostraron la mayor afinidad por MPO. El extracto acuoso de *O. rosea* protegió el daño colónico inducido por TNBS en ratas, un efecto que podría estar asociado con la presencia de compuestos polifenólicos, alcaloides y terpenos; así como su capacidad para regular a la baja la actividad de MPO. y la actividad de la mieloperoxidasa (MPO). Además, realizamos un perfil de metabolitos basado en LC-MS y un acoplamiento en el MPO. Las dosis de 500 y 750 mg / kg mostraron un efecto protector en el daño colónico inducido por TNBS. Esta actividad estuvo relacionada con la regulación a la baja de los parámetros evaluados. Además, considerando informes anteriores, se seleccionaron 29 metabolitos de 91 detectados para el acoplamiento, de los cuales el ácido isolimónico (29) y el Kaempferol 3- (2 ", 4 " diacetilrhamnoside) (10) mostraron la mayor afinidad por MPO. El extracto acuoso de *O. rosea* protegió el daño colónico inducido por TNBS en ratas, un efecto que podría estar asociado con la presencia de compuestos polifenólicos, alcaloides y terpenos; así como su capacidad para regular a la baja la actividad de MPO. Las dosis de 500 y 750 mg / kg mostraron un efecto protector en el daño colónico inducido por TNBS. Esta actividad estuvo relacionada con la regulación a la baja de los parámetros evaluados.

García, M. et al. (2018), documenta que las personas oriundas de la Meseta Purépecha, en Michoacán, México, poseen un gran conocimiento que ancestral acerca de las plantas medicinales usadas para tratar distintas afecciones dermatológicas, las cuales aún no se han documentado. Una investigación etnofarmacológico fue ejecutada en dicha localidad con el objetivo de recopilar datos para esclarecer la función de las plantas medicinales y elaboraciones de hieras usadas en dicho lugar para tratar los diversos padecimiento dermatológicos, con finalidad de dar a conocer la medicina tradicional Purépecha y así, lograr reconocer plantas que podrían garantizar el progreso de los tratamientos para alteraciones cutáneas. Métodos: Esta investigación se ejecutó en 21 municipios los cuales forman

la Meseta Purépecha. Se ha entrevistado a 86 individuos oriundos de esta localidad (62 féminas y 24 varones). Los datos obtenidos se examinaron cuantitativamente determinando el nivel de confianza, la validez de utilidad y el factor de consenso informante. Resultados clave: 97 clases de plantas que pertenecen a cuarenta y siete familias identificadas para tratar diecinueve padecimientos dermatológicos en la Meseta Purépecha. La familia Asteraceae se considera una planta primordial entre las que se encontraron (20.61%), de forma consecutiva la Solanaceae (5.15%) y Lamiaceae (13.40%). Para tratar heridas (40.20%), hinchazón de piel (37.11%) e irritaciones cutáneas (37.11%) se usó una gran proporción de plantas. La parte aérea de la planta, fue la parte primordial que se usó (34.75%). Las plantas que contienen valores curativos en gran proporción que se usaron, fueron las *Heterotheca inuloides* (0.53), *Aloe vera* (0.37) y *Oenothera rosea* (0.21). Cuando se compararon estos datos obtenidos con la información obtenida de la literatura etnomedicinal indicó que aproximadamente un 8.25% de las plantas usadas en la Meseta Purépecha, fueron registradas principalmente para tratar los padecimientos dermatológicos. Conclusiones: El ya mencionado estudio brinda una información innovadora acerca de las plantas medicinales que se usan en la Meseta Purépecha para tratar los padecimientos cutáneos. Es importante realizar indagaciones farmacológicas y toxicológicas en el futuro para probar la eficiencia y confianza de dichas especies para el tratar los padecimientos dermatológicos.

Dimpfel, W. et al (2016) Encontrar posibles aplicaciones terapéuticas que involucren el Sistema Nervioso Central (SNC) para las hierbas es un desafío importante durante los programas funcionales de descubrimiento y desarrollo de alimentos y medicamentos. A pesar de la disponibilidad de numerosas pruebas *in vitro* e *in vivo*, no hay un único procedimiento de detección acordado para las pruebas farmacológicas de extractos de hierbas con actividad CNS anticipada. La experiencia obtenida de más de 25 años de pruebas ha demostrado que dos modelos brindan una orientación

razonablemente confiable para futuras aplicaciones del SNC: construcción de un electrofarmacograma basado en la grabación inalámbrica de potenciales de campo desde la profundidad del cerebro de ratas que se mueven libremente (Tele-Stereo-EEG) y el registro del pico de población producido por células piramidales de cortes de hipocampo in vitro. Ahora se ha utilizado una combinación de estos dos métodos para caracterizar el perfil farmacológico de extractos de *Paullinia cupana* seeds, *Oenothera paradoxa* seeds y *Rhodiola rosea* root. El análisis espectral de los potenciales de campo reveló que la atenuación de las ondas alfa2 y beta1 era común para todos los extractos. Según estudios anteriores, esto se interpreta como la activación de la transmisión dopaminérgica y glutamatérgica. Además, *Oenothera* y *Rhodiola* extraen la potencia delta y theta atenuada, probablemente relacionada con la interferencia con la transmisión colinérgica y norepinefrinérgica, respectivamente. Mediante un análisis discriminante para la comparación con fármacos farmacéuticos y botánicos de referencia, *Rhodiola* proyectó cerca de la posición del extracto de Ginkgo, mientras que el extracto de *Oenothera* se proyectó cerca de la posición de Tramadol, un fármaco analgésico. El movimiento físico se incrementó solo en presencia de extracto de paullinia y cafeína. Se observaron aumentos de la potenciación a largo plazo en presencia de extracto de *Rhodiola*, extracto de *Paullinia* y cafeína. La información combinada predice actividades estimulantes y de mejora de la función cognitiva en humanos para el extracto de *Rhodiola*, que también podría usarse como un posible reemplazo de cafeína, y actividad antidepresiva y analgésica para el extracto de *Oenothera*.

Rosta ski, V. (2015). El género *Oenothera* (Onagraceae) fue revisado exhaustiva y críticamente en Bélgica. Esta revisión se basa en el estudio de varios cientos de especímenes de herbario más antiguos y más recientes de todos los principales herbarios públicos y privados, así como en el trabajo de campo adicional realizado desde 2000. Se proporciona una breve historia del género *Oenothera* en Bélgica. Se discuten las dificultades con respecto a

la taxonomía y nomenclatura. El tratamiento actual de *Oenothera* sigue a la "escuela europea" y, por lo tanto, se basa en un concepto de especie estrecha para la subsección *Oenothera*. En el presente documento solo se tratan las especies que se han registrado desde 1950. Como tales 27 especies (incluyendo híbridos estabilizados) se han mantenido: *Oenothera biennis*, *O. cambrica* (con dos variedades), *O. canovirens*, *O. deflexa*, *O. depressa*, *O. ersteinensis*, *O. fallax*, *O. fruticosa* subsp. *glauca*, *O. glazioviana*, *O. hirsutissima*, *O. issleri*, *O. lindheimeri*, *O. nuda*, *O. oehlkersii*, *O. paradoxa*, *O. parviflora*, *O. pycnocarpa*, *O. rosea*, *O. royfraseri*, *O. rubricalyx*, *O. rubricaulis*, *O. rubricauloides*, *O. stricta*, *O. subterminalis*, *O. victorinii*, *O. villosa* y *O. wratislaviensis*. Nueve especies adicionales solo se registraron antes de 1950. *Oenothera* está representada en Bélgica por las siguientes secciones, subsecciones y series: secciones *Gaura*, *Hartmannia*, *Kneiffia* y *Oenothera*, esta última además representada por las subsecciones *Munzia*, *Oenothera* (con la serie *Devriesia*, *Linderia*, *Oenothera* y *Rugglesia*) y *Raimannia*. Se presentan una clave de identificación y fotografías (en su mayoría de especies típicas y / o generalizadas).

Soto, M. et al. (2015), orientaron su trabajo de investigación a determinar la concentración de glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de *Solanum habrochaites* S. Knapp & D. M. Spooner (Solanaceae) evaluando la acción antimicrobiana. Las hojas de *Solanum habrochaites* S. Knapp & D. M. Spooner (Solanaceae), obtenida en el Cerro Campana, distrito de Huanchaco, región La Libertad-Perú; tienen acción antimicrobiana contra *Candida albicans* y *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a todas las concentraciones ensayadas (1; 2,5 y 5 mg/mL.), lo cual indica que son más eficaces contra *Candida albicans* cuya magnitud de halos de inhibición rebasaron al fluconazol 25 µg. Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) fueron de 50, 25 y 10 µg/mL para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans* respectivamente. Realizaron la cuantificación espectrofotométrica de glicoalcaloides esteroidales totales que son evidenciados como solanina mediante el método descrito por Peña.

En los resultados obtenidos se determinó la concentración de glicoalcaloides esteroideos totales evidenciados como solanina fue de $1,1212 \pm 0,0046$ g por 100 g de hojas secas.,este método se realizó por cuantificación espectrofotométrica mediante el método descrito por Peña.

La OMS (MINSA, 2017) indica que hasta la actualidad, las infecciones causadas por microorganismos, en los cuales encontramos las bacterias, hongos, parásitos y virus suponían ser una principal causa de muerte del ser humano, y la presencia de estos, sigue siendo en ambientes con recursos limitados.²

El MINSA (Ministerio de Salud, 2015) menciona en sus informes, que las principales enfermedades en donde se expresa el uso irracional de medicamentos es en la enfermedad diarreica; la cual representa el 3,4% de la indicativo de morbilidad en consulta externa y el 1,6% en hospitalización en el año 2015; infecciones del tracto respiratorio; representa el 16,7% y el 2,3% de los motivos de morbilidad en consulta externa y hospitalización respectivamente; meningitis, infecciones de transmisión sexual y las infecciones adquiridas en el hospital; asimismo el indicativo principal de mortalidad en el año 2014 fueron influenza (gripe) y neumonía 13,8% y otras enfermedades bacterianas 7,5%.

DeLeo, F y Chambers, H. (2009) afirman que, durante los últimos años, *Staphylococcus aureus* adquirió una importancia dramática en la medicina humana y veterinaria por diferentes razones. Si bien las infecciones por *S. aureus* se podían 1 tratar históricamente con antibióticos comunes, la aparición de organismos resistentes a los medicamentos es ahora una preocupación importante, la resistencia a los antibióticos no es la única arma en el arsenal de *S. aureus*. De hecho, estas bacterias tienen muchos factores de virulencia, incluida una gran capacidad para evadir las defensas inmunes del huésped.

Pacheco, J. (2017) ha descrito dos grupos principales, al interior de las cepas de *Escherichia coli* que contaminan a la raza humana, las cuales son

causantes de infecciones intestinales (cepas diarrogénicas) y también ocasionan infecciones extraintestinales; en este grupo, se ven incluidos los agentes que son culpables de las infecciones del tracto urinario (ITU), asimismo causantes de meningitis neonatal y bacteremia.

Ruvinsky, R. (2001) menciona en su trabajo un información obtenida de la OPS, la cual indica que fallecieron a causa de infecciones respiratorias agudas (IRAs) 72 mil individuos con edades inferiores a 5 años en Latinoamérica en el año 1999; el 80% corresponden a neumonía, y 50% son a causa de *S. pneumoniae*, basados en previas investigaciones. Gran cantidad de publicaciones coinciden que el 30 - 40% de las OMA, 40% de las sinusitis agudas y 50% de las neumonías bacterianas obtenidas en la localidad, se deben al *Streptococcus pneumoniae*.

1.2 Fundamentación Científica:

1.2.1 Efecto Antibacteriano Del *Oenothera Rosea*

Yauli, E (2019) Se evaluó la efectividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de la *Oenothera rosea* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en comparación con la Dicloxacilina in vitro. Se diseñó un esquema experimental compuesto por 4 diluciones (40%-60%-80%-100%), 1 control positivo (dicloxacilina 3µg) y 1 control negativo; El estudio demostró que las diluciones al 40% y 60% no presentan efecto inhibitorio; al 80%, el diámetro del halo de inhibición fue de 7.5 mm (DS 0.1±0.13 IC95%: 7.4 a 7.5) entre los intervalos de 7.4 a 7.6 mm; también se logra evidenciar que a la concentración de 100% el valor máximo de halo inhibitorio llegó a 11.6 mm (DS 0.0±0.03 IC95%: 11.5 a 11.6) entre los intervalos de 11.5 a 11.6 mm. En relación a la Dicloxacilina tuvo una zona de inhibición de 16,6 mm (DS 0.1±0.05 IC 95%: 16.6 a 16.6) entre los intervalos 16.5 a 16.7mm. Concluyéndose que no presenta eficacia antibacteriana en ninguna de las concentraciones de la *Oenothera rosea*.

Gómez, R. (2014). Determinar el efecto antibacteriano de *Oenothera rosea* contra *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* y *Vibrio cholerae*.

Metodología: El efecto antibacteriano in vitro del metanol y los extractos acuosos de la planta mexicana *O. rosea* contra cepas de *E. coli*, *S. enteritidis* y *V. cholerae* se evaluaron en medio líquido mediante el colorimétrico 3-[4,5-dimetiltiazol]. Ensayo de reducción de bromuro de 2-il] -2,5-difeniltetrazolio (MTT). Resultados: El metanol y los extractos acuosos inhibieron de forma significativa el incremento de todas las cepas de bacterias analizadas. El extracto de metanol causó un crecimiento de hasta 55%, 66% y 87% contra *E. coli*, *S. enteritidis* y *V. cholerae*, respectivamente, mientras que el extracto acuoso indujo hasta 54%, 69% y 88% de inhibición del crecimiento bacteriano, respectivamente. Metanol y acuoso Conclusión: El efecto antibacteriano observado de *Oenothera rosea* L.

1.2.2 Chupasangre, de la comunidad de Casma, Ancash

El chupasangre es una planta que se emplea en muchas de las comunidades campesinas de Ancash. Los extractos o infusos empleados en estas comunidades, nos ha llevado a seleccionar preferentemente las hojas, tallos y flores. En la región Ancash su consumo es infusión, emplasto y extracto acuoso, de forma especial para celulitis y enfermos con granos debido a que lucha contra las infecciones y logra cicatrizar las heridas.

1.2.3. Clasificación de Chupasangre.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Myrtales
Familia:	Onagraceae
Género:	Oenothera
Especie:	rosea
Nombre binomial:	Oenothera rosea L

1.2.4 Las bacterias Gram-positivas

Las bacterias Gram-positivas, llamamos así a las que identificamos debido a que se pigmentan de color violeta o azul oscuro debido a la tinción de

Gram. En dicha particularidad química se ven involucrada una pared celular y la membrana citoplasmática formada por una capa gruesa de peptidoglucano, la cual se encuentra alrededor de la anterior.²³ La OMS, denomina las siguientes bacterias, como prioridad crítica por su resistencia antimicrobiana:

El *Staphylococcus aureus* tolerante a meticilina (MRSA) es un importante agente patógeno, tanto en el hospital como en la comunidad. Aunque existen varias pautas con recomendaciones para controlar dicho microorganismo, las medidas propuestas no se implementan de manera uniforme en los hospitales españoles. El objetivo de dicho informe es proporcionar sugerencias, las cuales se basan en la prueba que son aplicables a los hospitales españoles, con la finalidad de disminuir la transmisión de MRSA en nuestros centros de atención médica. Las sugerencias están divididas en los siguientes grupos: vigilancia, detección activa de la invasión en pacientes y trabajadores de la salud, medidas para el manejo en pacientes infectados, terapia de descolonización, desinfección y limpieza del medio ambiente, ingesta de antimicrobianos, medidas para pacientes no hospitalizados y otros. Las recomendaciones más importantes incluyen vigilancia adecuada, higiene de las manos e implementación de vigilancia activa, ser precavido al contacto y la higiene ambiental.

Streptococcus pneumoniae es una bacteria Gram positiva, la cual resulta una preocupación importante para la salud en los países con un avance importante y también países subdesarrollados. Dicha bacteria se considera responsable de un incremento de morbilidad y letalidad, dicha bacteria es un principal agente causante de diversos cuadros clínicos considerables, infecciones benignas como otitis media y sinusitis agudas, e infecciones crónicas como septicemia, meningitis y neumonía. Las muertes de cuatro millones de niños con edades inferiores a 5 años y una cifra idéntica de adultos mayores de 60 años aproximadamente han fallecido a causa de la neumonía como síndrome, gran parte estos fallecimientos se atribuyen a *S. pneumoniae* considerándolo único agente o se encuentra vinculado a virus

respiratorios. Diversas referencias obtenidas en Latinoamérica por el BID, indican que cada año se originan 9 mil casos de MBA (meningitis bacteriana aguda), teniendo en promedio un 10% de letalidad y secuelas 30%. *S. pneumoniae* se transmite por vía aérea. Su cápsula polisacáridica le posibilita evitar la fagocitosis, con riesgo de invasividad, esto sucede de manera frecuente en los niños, asimismo mantiene una sinergia con infecciones virales respiratorias

2.2.5 Bacterias Gram negativas:

Las bacterias gramnegativas son las que no se pigmentan de color violeta o azul oscuro por la tinción de Gram, en cambio se pigmentan de un color rosado tenue. Contienen dos membranas lipídicas donde se ubica una pared celular fina de peptidoglicano, en tanto las bacterias grampositivas poseen tan solo una membrana lipídica y la pared de peptidoglicano es considerablemente gruesa.

Escherichia coli (*E. coli*) normalmente, esta bacteria se localiza al interior del intestino de los seres humanos y animales de sangre caliente. Un número grande de las cepas de *E. coli* no representan un peligro considerable. Pero debemos tener en cuenta que la *E. coli* que produce toxina Shiga, podrían ser las principales causantes de una enfermedades a través de los alimentos. Los alimentos contaminados, son la principal forma de transmisión al hombre, tales alimentos pueden ser productos de carne picada que no se ha cocinado o se encuentra sin cocinar, hortalizas, leche cruda y semillas germinadas que no se han cocinado y se encuentran contaminadas. La infección por esas en el agua y diversas comidas, asimismo la infección cruzada que se da en la elaboración (esto sucede con carne de vaca y otros productos cárnicos, espacios e instrumentos de cocina contaminados), también es causante de infecciones.

1.2 Justificación de la investigación

La *Oenothera L* es una especie vegetal de un especial uso que se practica en la costa y sierra del Perú y de acuerdo a las investigaciones realizadas, se

define como un producto antiinflamatorio. De acuerdo a las costumbres populares, chupasangre se recomienda para el tratamiento de la celulitis, úlceras estomacales, entre otras enfermedades. Sin embargo, existe un vacío de conocimiento científico sobre sus propiedades antimicrobianas. Los resultados del estudio que realizaremos, beneficiarían a la comunidad, ya que podría ser utilizado como un antibiótico eficaz y de muy bajo costo, contra bacterias que alarman las cifras de la morbilidad y mortalidad en el Perú; entre estas se encuentran nuestras cepas en estudio: *Staphylococcus Aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*.

1.3 Problema general

¿Poseen efecto antibacteriano el extracto de *Oenothera rosea* L. "Chupasangre" frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*?

1.4 Marco Referencial

DEFINICIÓN OPERACIONAL:

) **Independiente:**

Concentración de extracto de *Oenothera* L. "Chupasangre". La concentración será expresada en mg/mL y colocada en placas petri mediante la formación de discos de inhibición a concentraciones de 25, 50 y 100%.

) **Dependiente:**

Efecto inhibitorio sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25623, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619: Posibilidad para lograr impedir la propagación u ocasionar la muerte del organismo en condiciones experimentales, establecer mediante la medición del crecimiento del microorganismo en placas Petri y comparado por halos de inhibición.

) **Covariable:**

Uso de antibióticos de primera línea: ceftriaxona, amoxicilina/ac. Clavulánico y Sulfametoxazol/Trimetoprima. Posibilidad para lograr impedir la propagación u ocasionar la muerte de los organismos usados como comparación con el efecto logrado de los extractos de *Oenothera L* "Chupasangre".

Escala de Duraffourd: escala cualitativa que determina el efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición:

- Nula: Diámetro < 8 mm.
- Sensibilidad límite: diámetro entre 8 y 14 mm.
- Muy sensible: diámetro entre 15 y 20 mm.
- Sumamente sensible: diámetro > 20 mm.

1.5 Hipótesis

H0: El extracto de *Oenothera L* "Chupasangre" no posee efecto antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*.

Ha. El extracto de *Oenothera L* "Chupasangre" posee efecto antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*.

1.6 Objetivos

1. Objetivo general:

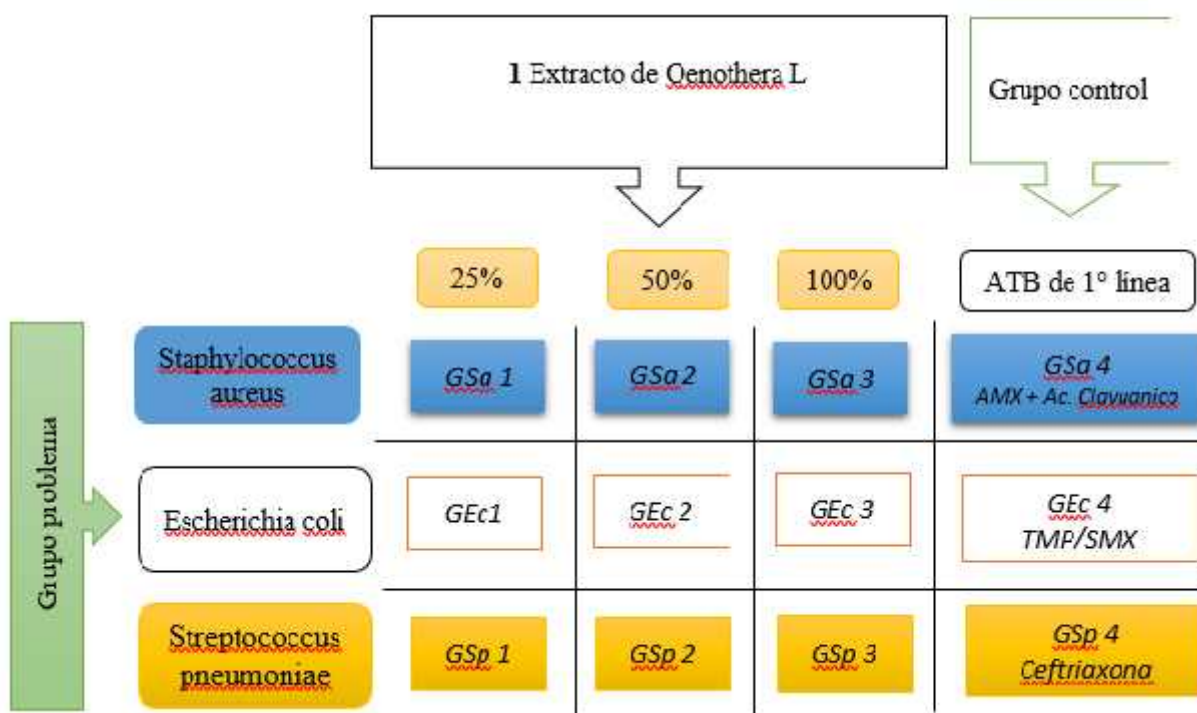
) Comprobar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Oenothera L* "Chupasangre" en cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli* y *Streptococcus pneumoniae* proporcionadas por el laboratorio de Microbiología correspondiente.

2. Objetivos Específicos:

- J Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto de *Oenothera L* "Chupasangre" frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25623), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619) y *Escherichia coli* (ATCC 25922).
- J Realizar el screening fitoquímico del extracto de *Oenothera L* "Chupasangre" por el método de Olga Lock.
- J Identificar las fracciones del extracto de *Oenothera L* "Chupasangre".
- J Comparar estadísticamente la inhibición en los extractos de hojas secas de *Oenothera L* "Chupasangre".

II. Metodología

2.1 Tipo y diseño de investigación



El estudio de tipo experimental puro

De cada grupo se determinará los halos de inhibición y la concentración mínima inhibitoria (CMI)

- φ *GSa 1*: Staphylococcus aureus + Extracto acuoso/S de " Chupasangre". **1 2 y 3.**
- φ *GSa 2*: Staphylococcus aureus + Extracto acuoso/S de " Chupasangre". **1 2 y 3.**
- φ *GSa 3*: Staphylococcus aureus + Extracto acuoso/S de " Chupasangre". **1 2 y 3.**
- φ *GSa 4*: Staphylococcus aureus + ATB de primera línea (Amoxicilina + Ácido Clavulánico)

- φ *GSp 1*: Streptococcus pneumoniae + Extracto acuoso/S de " Chupasangre". **1 2 y 3**
- φ *GSp 1*: Streptococcus pneumoniae + Extracto acuoso/S de " Chupasangre". **1 2 y 3**
- φ *GSp 1*: Streptococcus pneumoniae + Extracto acuoso/S de " Chupasangre" **1 2 y 3**
- φ *GSp 1*: Streptococcus pneumoniae + ATB de primera línea (Ceftriaxona)
- φ *GEc 1*: Escherichia coli + Extracto Acuoso/ seco de " Chupasangre". **1 2 y 3.**
- φ *GEc 2*: Escherichia coli + Extracto Acuoso/seco de " Chupasangre". **1 2 y 3.**
- φ *GEc 3*: Escherichia coli + Extracto Acuoso/ seco de " Chupasangre". **1 2 y 3.**
- φ *GEc 4*: Escherichia coli + ATB de primera línea (*TMP/SMX*)

2.2 Población y muestra

2.2.1 Población: Fue representada por un conjunto de cepas de Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae y Escherichia coli codificadas y proporcionadas por el laboratorio COLECBI S.A.C. – Nuevo Chimbote.

2.2.2 Muestra:

Tamaño de muestra: Al ser un trabajo de carácter experimental se aplicó la fórmula estadística de diferencia de promedio sobre halos de

inhibición, para determinar la cifra de placas que serán necesarias para validar la investigación.

Unidad de análisis: Fueron por cada uno de los cultivos de cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*.

Unidad de muestra: Fueron por cada placa Petri con cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*.

Método de muestreo: Se analizaron la totalidad de las placas que se utilizaron para el desarrollo de los experimentos y se obtuvo la muestra en forma aleatoria.

2.3 Técnicas e instrumentos de investigación:

2.3.1 Obtención del extracto de *Oenothera L* "Chupasangre".

) Método de percolación:

La *Oenothera L* "Chupasangre" será reducido a trozos con un tamaño apropiado, de ser necesario, se mezclará con una porción específica del disolvente (agua destilada) dejando reposar por el lapso de 15 minutos. La mezcla se colocará en un percolador y luego para cubrir toda la masa sólida se añadirá una suficiente proporción del disolvente especificado. Luego se dejará percollar de forma lenta la muestra, cubriendo siempre con una capa de disolvente. La porción que queda será sometida a presión y el fluido que se obtendrá debe ser mezclado con el percolado. Este extracto será concentrado por destilación bajo presión aminorada, de forma que los constituyentes de interés se verán sometidos a la mínima cantidad de calor posible.

) Concentración del extracto en rotavapor.

En un evaporador rotatorio a 55 °C. por debajo de una atmósfera de presión se concentrará a presión reducida el extracto obtenido. Luego el extracto se conservará en frascos estériles color ámbar a refrigeración entre 6-8 °C.

De este residuo seco, se prepararán las concentraciones de 25%, 50% y 100% disueltas en agua respectivamente. Para finalizar, los extractos acuosos fueron preservados en frascos de vidrio estériles color ámbar.

2.3.2 Obtención del extracto seco de *Oenothera L* "Chupasangre"

Primero las hojas y tallos secos de "Chupasangre" será pulverizado en un molino manual hasta obtener un polvo fino. Se pasará por dos tamices de diferente calibre a la muestra pulverizada, logrando así separar las impurezas.

Se colocarán 50 gramos del polvo obtenido y se le agregará 300 ml de agua destilada etanol 70°, luego será llevado a baño maría a 40°C por el lapso de 4 horas. El producto se filtrará 3 veces utilizando papel filtro Whatman N° 1 y la solución que resulte será trasladada a sequedad en una cámara de secado al vacío a una presión.

2.3.2.1 Método fitoquímico de Olga Lock

Está basado en la obtención de los fitoconstituyentes, manipulando la muestra a la acción extractiva de solventes de polaridad creciente, como el cloroformo, etanol, metanol y agua; además de la aplicación de pruebas con reactivos específicos para la identificación por coloración y precipitación.

a. Identificación de Alcaloides:

En un vial, por un lapso de 30 minutos se colocará 3 g de cada extracto de *Oenothera L* "Chupasangre" pulverizado, en solución etanólica ácida de HCl 1N (10 ml EtOH+1 ml HCl). En un segundo vial, por un lapso de 30 minutos se colocará 3g de cada "Chupasangre" pulverizado en solución acuosa ácida de HCl 1N (10 ml H₂O+1 ml HCl). Trascurrido el tiempo y posteriormente a que la solución ambos viales se torne de color pardo rojizo oscuro en, procederemos a filtrar y agregaremos reactivos de identificación como:

- J) **Reactivo de Dragendorff:** Se agregará una cantidad de gotas de este reactivo a la solución acida del alcaloide y se observará la presencia de un precipitado naranja rojizo (indicio de la presencia de alcaloides).
- J) **Reactivo de Wagner:** A la solución ácida, se adicionará 2 - 3 gotas del reactivo de Wagner y se observará la presencia un precipitado color marrón.

b. Identificación de Saponinas:

Se colocarán 3 mL de extracto acuoso en un tubo de ensayo, se agitará fuertemente por el lapso de 30 segundos y por 1 minuto se dejará reposar. Si persiste la espuma por un lapso mayor a 10 minutos y logra alcanzar una altura mayor de 2 mm la prueba se considerará positiva.

c. Identificación de Esteroide y/o Triterpenos:

Se utilizará el Ensayo de Liebermann –Burchad, para realizar el procedimiento se preparará un extracto acuoso y se tomarán 10 mL, realizaremos 2 extracciones con cloroformo en una pera de decantación, después el extracto clorofórmico se lavará con agua destilada y se dejará secar con anhidro Na₂SO₄, consecutivamente se debe filtrar y dejar concentrar a 3 mL (baño maría). Una vez se obtiene este extracto concentrado se agregarán 1 mL de anhídrido acético refrigerado, asimismo se agregarán dos gotas de ácido sulfúrico concentrado por las paredes sin agitar. Indicaría presencia de saponinas esteroideas si se forma una coloración azul a verde; si, por el contrario la coloración fuese rosa, roja, magenta o violeta evidenciaría la manifestación de saponinas triterpenoides.

d. Identificación de antraquinonas y Quinonas:

Ensayo de Borntrager. Del extracto acuoso se tomarán 20 ml y se realizarán 2 extracciones con benceno en una pera de decantación, después el extracto bencénico se procederá a lavar con agua destilada y deberá dejarse secar con anhidro Na₂SO₄, consecutivamente deberá filtrarse y se concentrará a 3 mL (baño maría). Posteriormente se agregarán 1mL de NaOH al 5% al extracto bencénico concentrado. Se agitarán fuertemente mezclando, así las fases, y

se dejará reposando hasta el momento de su separación. Indica la presencia de quinonas en caso la fase acuosa alcalina se colorea de rosa-rojo y se decolora la fase del benceno.

e. Identificación de Leucoanticianidina:

Se le añadirá 1 mL de HCl 2N (en 1-propanol) a 3 mL de extracto acuoso, sin mezclar o sacudir por las paredes del tubo, después se calentarán a una temperatura de 45°C aproximadamente por 15-30 segundos; indica la presencia de leucoanticianidina si se colorea de rojo carmesí la parte alcohólica.

f. Identificación de Flavonoides:

Con Reactivo de Shinoda: Se colocarán 1mL de muestra con 2 limaduras de magnesio en un tubo de ensayo, se añadirán 3 gotas de HCl concentrado. Si pasados 10 minutos la solución se torna de color naranja intenso, indicaría que la prueba da un resultado positivo para flavonoides.

Con Reactivo de NaOH: Se colocarán 5 mL de extracto acuoso y se agregarán unas gotas de NaOH 10% en una placa de toque. Si aparecen colores que pasan del amarillo a rojo se tomará como indicio de aparición de flavonoides. Posteriormente para corroborar se colocarán 2 gotas de extracto acuoso en un papel filtro se dejará secar y se llevarán a vapores de amoníaco, la prueba podrá ser considerada positiva para flavonoides si se intensifica el color amarillo.

g. Identificación de Taninos:

Reacción con Cloruro férrico: Se colocará 1ml de la muestra y se añadirá 2ml de FeCl₃ en una placa de toque. Si instantáneamente toma un color verde oscuro casi negro, la prueba es positiva lo que indicaría la aparición de compuestos taninos y fenólicos.

Precipitación con Agua de Bromo: 1ml de la muestra y se agregará 1ml de agua de bromo se colocará en una placa de toque. La precipitación con el agua de bromo indica la presencia de un tanino catéquico o flobatanino.

2.3.2.2 Método de Kirby- Bauer o de difusión

Este método fue estandarizado en los Estados Unidos en 1966 por Kirby-Bauer, representa la prueba de susceptibilidad más usada en bacteriología clínica debido a que permite conseguir resultados muy precisos mediante un método cuantitativo, semicuantitativo o cualitativo, este último suele ser el más utilizado.

a) Estandarización del inóculo y sembrado:

Se elaborará el inóculo en caldo de Mueller Hinton de las colonias aisladas pasadas 24 horas de incubación (usando un ambiente enriquecido, el agar soya tripticasa).

Se utilizará la escala de Mc. Farland, que consiste en el estándar de turbidez de sulfato de bario. La escala que se usa para el inóculo de las pruebas de susceptibilidad por el método de disco difusión es 0.5 según lo establecido.

Se realizará la siembra de la placa con el agar seleccionado previamente puede ser por diseminación en la superficie, por inundación o por agotamiento por estrías. Luego se dejará secar entre 3 y 5 minutos.

b) Para la preparación de los discos de sensibilidad con los extractos de "Chupasangre":

Tomaremos 5ml. de cada concentración del extracto acuoso y serán distribuidas en viales estériles, se incorporará los discos de papel Whatman N°1 de 6mm de diámetro. Pasados 10 - 20 minutos, los viales se llevarán a una temperatura de 37°C por un lapso de 5 horas para su secado.

Con una pinza estéril de puntas finas se colocarán encima de la superficie del agar sembrado, los discos embebidos previamente con los extractos y los discos con los antimicrobianos de primera línea seleccionadas.

c) Para la lectura de los resultados:

Las placas serán incubadas por 24 horas a una temperatura de 37°C. una vez llegado a lo establecido se realizará la lectura bioquímica.

Se utilizará la escala de Duraffourd, una escala cualitativa que determina el efecto inhibitorio in vitro según diámetro de inhibición.

) *Nula*: Diámetro < 8 mm.

) *Sensibilidad límite*: diámetro entre 8 y 14 mm.

) *Muy sensible*: diámetro entre 15 y 20 mm.

) *Sumamente sensible*: diámetro > 20 mm.

2.4. Procesamiento y análisis de la información

Los procesamientos de los resultados obtenidos se procesarán de forma automática con el soporte del programa estadístico SPSS 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences), mientras que los gráficos y las tablas en función de la estadística descriptiva (media, frecuencia, desviación estándar), se elaborarán en el programa de Microsoft Excel.

- ✓ **Estadística descriptiva:** Se elaborarán tablas de frecuencias de una entrada con sus valores absolutos, lo cual nos permitirá procesar la información.
- ✓ **Estadística Analítica de resultados:** Se realizará un análisis de Chi cuadrado para variables cualitativas en un diseño aleatorio para el efecto bactericida analizando y midiendo el halo de inhibición.

III. Resultados

❖ Preparación de extracto:

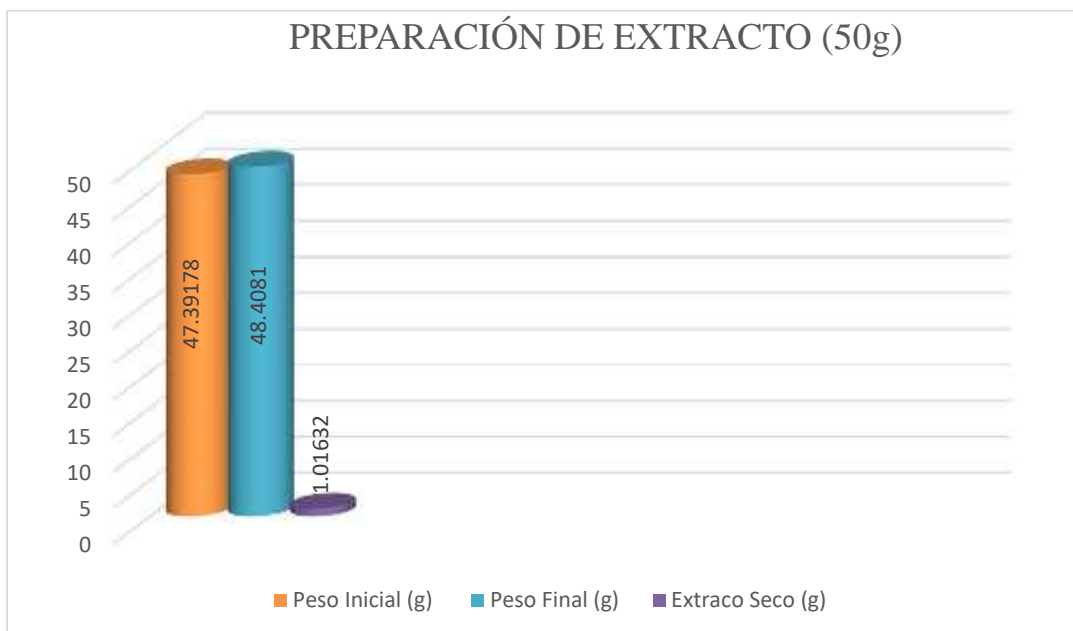


Grafico N° 01: Preparación del extracto para actividad antibacteriana en agar.

Se preparó 5g de muestra en 100 ml de agua destilada, se sónico por 15 minutos para finalmente llevarlo hasta sequedad.

Se preparó una concentración inicial de 256 mg y se realizó diluciones al medio, teniendo un rango de 256mg – 0.5 mg para actividad antibacteriana en agar.

❖ **Actividad antibacteriana:**

Concentraciones	<i>MRSA</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
256	10 mm	--	--	--	9 mm
128	9mm	--	--	--	7mm
64	--	--	--	--	7mm
32	--	--	--	--	--
16	--	--	--	--	--
8	--	--	--	--	--
4	--	--	--	--	--
2	--	--	--	--	--
1	--	--	--	--	--
0.5	--	--	--	--	--

Tabla N° 01: Ensayo realizado en agar Mueller Hinton.

Cepas usadas:

. *Bacillus subtilis*

. *Escherichia coli*

. *Pseudomonas aeruginosa*

. *Staphylococcus aureus*

. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina MRSA

Se ajustó la turbidez del inóculo de 0.08-0.12 a 600 nm en el espectrofotómetro, se realizó la siembra por estría con un hisopo.

Los discos contenían 10 ul del extracto.

	<i>MRSA</i>	<i>E. coli</i>	<i>B.</i>	<i>P.</i>	<i>S. aureus</i>

			<i>subtilis</i>	<i>aeruginosa</i>	
CMI	1 mg	0 mg	4 mg	8 mg	1 mg
CMB	2 mg	0 mg	8 mg	0 mg	1 mg
CMB/ CMI	2	0	2	0	1

Tabla N° 02: Ensayo realizado en caldo Mueller Hinton

● Bactericida

● Bacteriostático

) Rango para CMI :128 – 0.25 mg

EXTRACTO	Acuoso							Etanol		Diclorometano		
	espuma	Alcaloides			gelatina	FeCl ₃ Taninos	BASE	ACIDO	Shinoda	FeCl ₃	Baljet lactonas	Liebermann - Burchard
Dragendorff		Mayer	Wagner									
Chupasangre	++	-	-	-	-	+	No Rx	No Rx	-		-	-

Tabla N° 3: Presencia de metabolitos secundarios

Interpretación:

Ausencia -

Escaso +/-

Moderado +

Abundancia ++

Muy abundante

+++

IV. Análisis y discusión

Debido a la composición química de la *Oenothera rosea*; compuesta en mayores concentraciones por taninos, flavonoides y eicosanoides se le atribuye sus propiedades benéficas en varios efectos positivos en el organismo como son: protectores de la pared vascular, venotónicos, diurético, hepatoprotector, antihemorrágico y sobre todo un efecto antibacteriano ciertamente no eficaz ante *Staphylococcus aureus*, pero sí eficaz frente a otros agentes bacterianos. No hay estudio fitoquímico exacto que determine cual metabolito sea el encargado del efecto antibacteriano.

Respecto a la *Oenothera rosea* se observa en forma general presencia de mayores beneficios como agente debido a su componente mayoritario que son los flavonoides estos hallados en un screening fitoquímico comparativos con otra especie de *Oenothera*. Y por lo antes ya mencionado; el efecto antibacteriano se restringe al tipo de extracto usado y el agente bacteriano a aplicar.

Márquez, Y. et al (2018) El género *Oenothera* consta de 145 especies de hierbas que se usaron para tratar las afecciones que se producen en la piel, diabetes mellitus, problemas renales y hepáticos, y como medicamentos antidiarreicos y antibacterianos.

V. Conclusiones

- El extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* evidencia que a mayor concentración presenta tener mayor efecto antibacteriano pero por tanto se determina que no presenta eficacia antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.
- A la concentración de 10mmde *Oenothera rosea* comienza a evidenciar efecto antibacteriano con un halo de inhibición 9 mm, sin embargo no es eficaz.
- En conclusión, presentan actividad antibacteriana in vitro frente a *Staphylococcus aureus* cepas ATCC 25923 presenta actividad antibacteriana.

VI. Recomendaciones

-) Aplicar el estudio sobre otros agentes bacterianos.
-) Aplicar la investigación en animales de experimentación (roedores).
-) Aplicar la investigación sobre otros efectos terapéuticos de la *Oenothera rosea* como un antiinflamatorio, diurético o protectores de pared vascular.

VII. Agradecimiento

El trabajo investigativo que hoy presentamos, se lo dedicamos principalmente a Dios, por darnos fuerzas y ser nuestra fuente de inspiración para este proceso de estudios y poder alcanzar nuestro objetivo más anhelado.

Agradecemos también a nuestros padres, ya que siempre nos brindan su amor, apoyo y confianza, valoramos el trabajo y sacrificio que han tenido. Hoy nos es posible lograr nuestro objetivo y darle las gracias por su soporte. Es y será siempre un gran orgullo y nos sentimos privilegiadas de ser sus hijas.

Así mismo a nuestros hermanas y hermanos por estar presentes en esta lucha y alentarnos a continuar, no dejándonos solas y su gran apoyo, el cual ha sido fundamental para concluir esta etapa de nuestras vidas.

Un agradecimiento especial a nuestros docentes de la Escuela de farmacia y bioquímica de la Universidad San Pedro, por haber su sapiencia y experiencia a lo largo de la preparación de nuestra profesión, y de manera especial a nuestro Asesor de tesis Dr. Rafael Diomedes camones Maldonado quien ha guiado con su paciencia, experiencia y profesionalismo.

VIII. Referencias bibliográficas

- Amer, W. M., & Abdelmohsen, G. (2014). Lipid of some edible Solanaceae species; and its activity against some antibiotic resistant pathogenic bacteria. *WJPR*, 3(3), 3511-27.
- Calva-Candelaria, N., Meléndez-Camargo, M. E., Montellano-Rosales, H., Estrada-Pérez, A. R., Rosales-Hernández, M. C., Fragoso-Vázquez, M. J., ... & Márquez-Flores, Y. K. (2018). *Oenothera rosea* L' Hér. ex Ait attenuates acute colonic inflammation in TNBS-induced colitis model in rats: in vivo and in silico myeloperoxidase role. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 852-864.
- DeLeo, F. R., & Chambers, H. F. (2009). Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. *The Journal of clinical investigation*, 119(9), 2464-2474.
- Dimpfel, W., Schombert, L., Vega-Morales, T., & Wiebe, J. C. (2016). Neuropharmacological characterization of extracts from *Rhodiola rosea*, *Oenothera paradoxa* and *Paullinia cupana* in comparison to caffeine. *Pharmacology & Pharmacy*, 7(07), 290.
- García, R. E., Calix, E. P., Zarzosa, A. O., & Pérez, M. E. G. (2018). Ethnomedicinal plants used for the treatment of dermatological affections on the Purépecha Plateau, Michoacán, Mexico. *Acta Botanica Mexicana*, (125), 95-132.
- Gómez-Flores, R. (2014). Actividad antibacteriana de los extractos de hojas de *Oenothera rosea* (L 'Hér). *Revista británica de medicina e investigación médica*, 2 (3), 396-404. <https://doi.org/10.9734/bjmmr/2012/1480>

- Instituto Nacional de Salud. (2008). *Informe de la resistencia antimicrobiana en hospitales en Perú, 2006*. Recuperado de: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/boletin/pdf/bol%204-08.pdf>
- Jafari, A., Aslani, M. M., & Bouzari, S. (2012). Escherichia coli: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. *Iranian journal of microbiology*, 4(3), 102.
- Márquez-Flores, Y. K., Meléndez-Camargo, M. E., García-Mateos, N. J., Huerta-Anaya, M. C., Pablo-Pérez, S. S., & Silva-Torres, R. (2018). Phytochemical composition and pharmacological evaluation of different extracts of *Oenothera rosea* L'Hér. ex Ait (Onagraceae) aerial part. *South African Journal of Botany*, 245-250. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.04.008>
- Ministerio de Salud - Oficina General de Estadística e Informática. (2015). Principales causas de morbi y mortalidad en consulta externa y hospitalización de establecimientos MINSA y gobiernos regionales Perú - año 2015. Recuperado de <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/morbilidad/cemas/cros.asp?00>
- Organización Mundial de la Salud. (2017). *Los microorganismos y los antibióticos*. Recuperado de: http://www.who.int/drugresistance/Microbes_and_Antimicrobials/es/
- Pacheco Ludeña, J. E. (2017). Resistencia antibiótica de Escherichia Coli en infecciones urinarias complicadas y no complicadas tratadas en

el Hospital General Isidro Ayora de Loja en el año 2015
(Bachelor's thesis).

Rostski, K., & Verloove, F. (2015). The genus *Oenothera* (Onagraceae) in Belgium. *Dumortiera*, 106, 12-42.

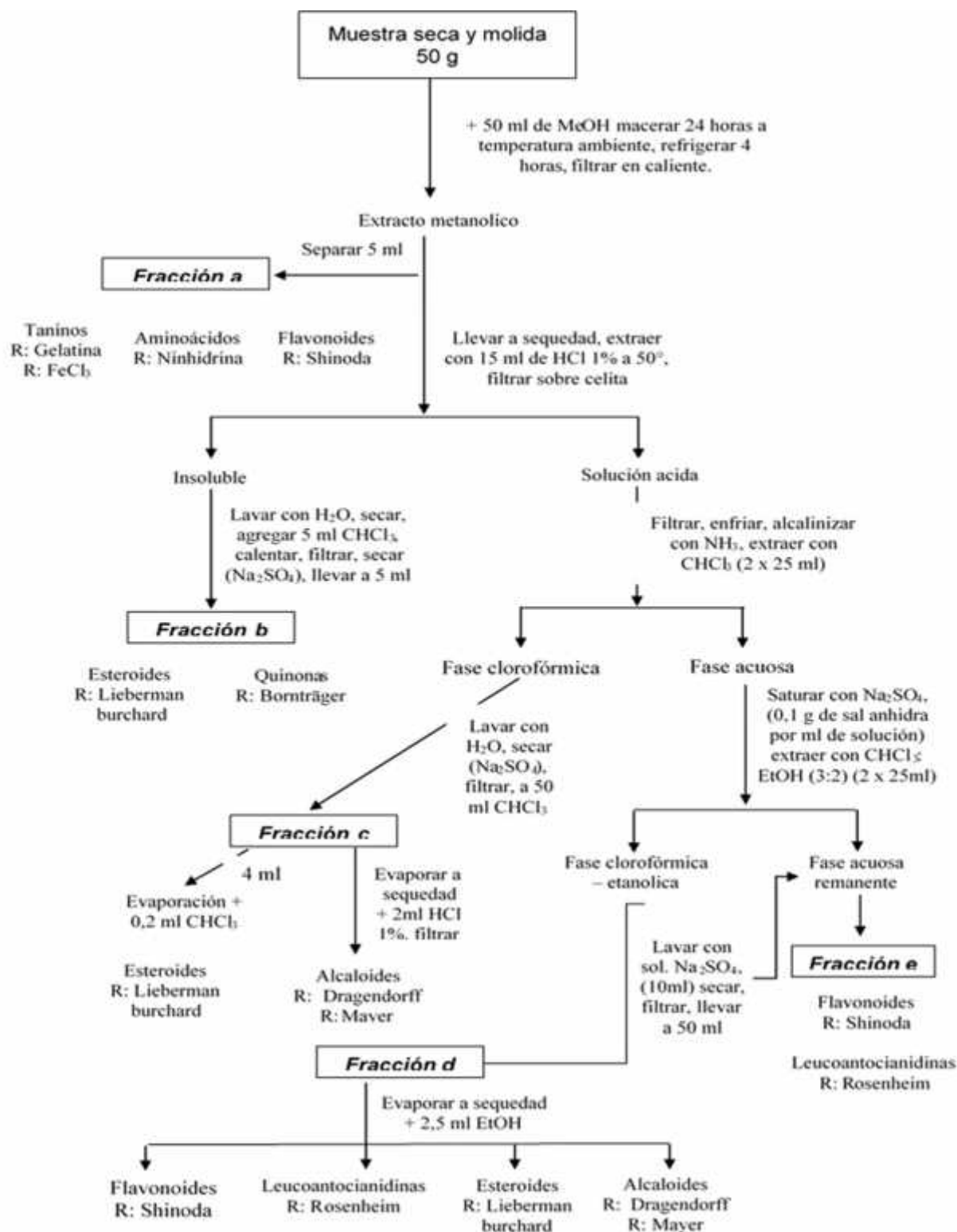
Soto, M., y Soto, K. (2015). Cuantificación de glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de *Solanum habrochaites* S. Knapp, & D.M. Spooner (Solanaceae) y su actividad antimicrobiana. *Arnaldoa*, 22(1), 105-118.

Yauli Ñaupas, E. (2019). Eficacia Antibacteriana del Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera Rosea* “Yawar Soqo”, sobre *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923 Comparado con Dicloxacilina, In Vitro. Tesis de pre-grado. UCV – Trujillo, Perú.

IX. Anexos y apéndices



“Chupasangre fresco en maceta”



Esquema complejo de marcha fitoquímica Olga Lock de Uga



Marcha fitoquímica preliminar simple de Olga Lock De Ugaz



Concentración mínima inhibitoria

- *Actividad antibacteriana*

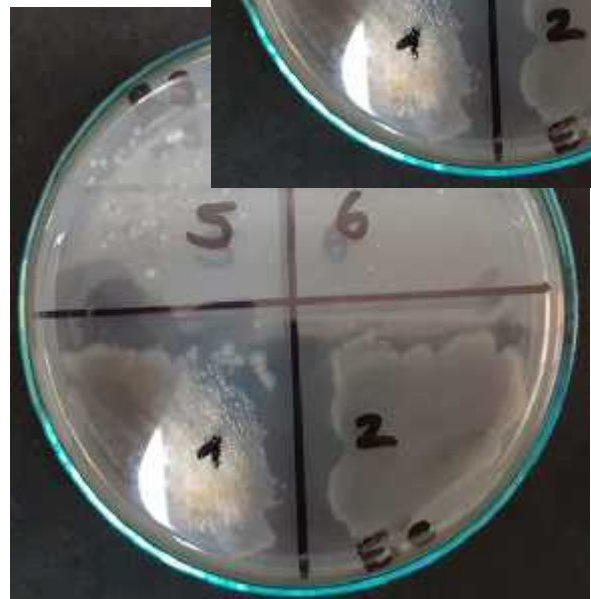
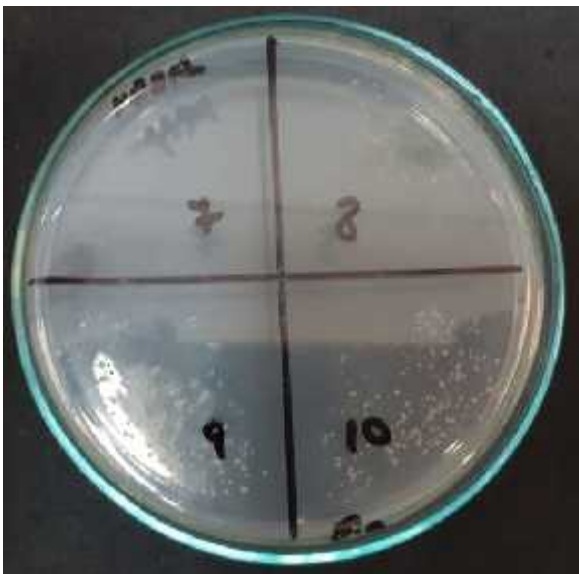
.,*Bacillus subtilis*

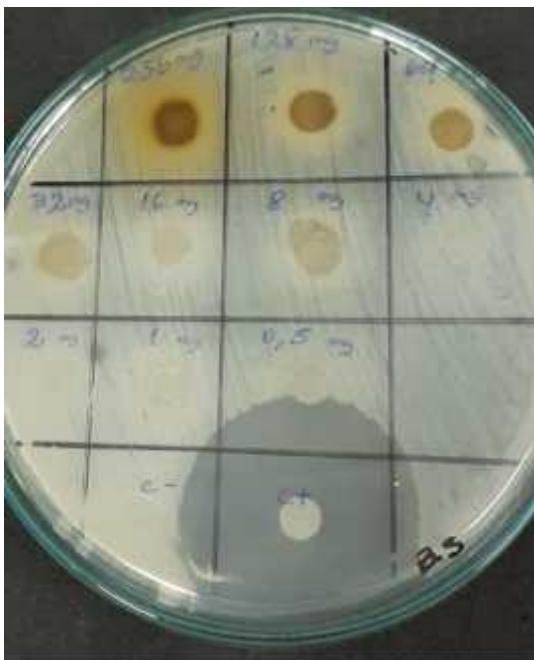
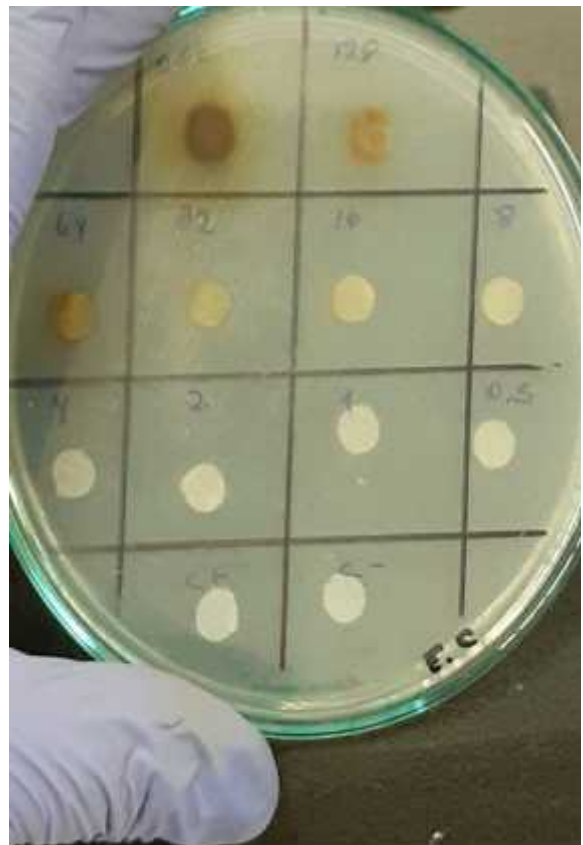
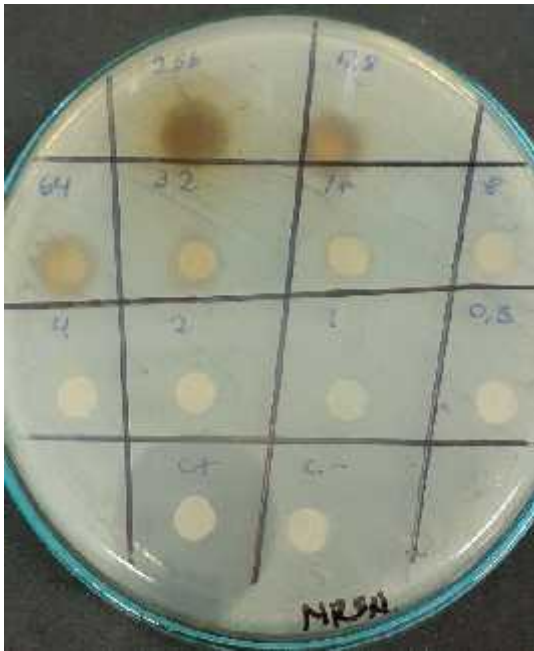
. *Escherichia coli*

. *Pseudomonas aeruginosa*

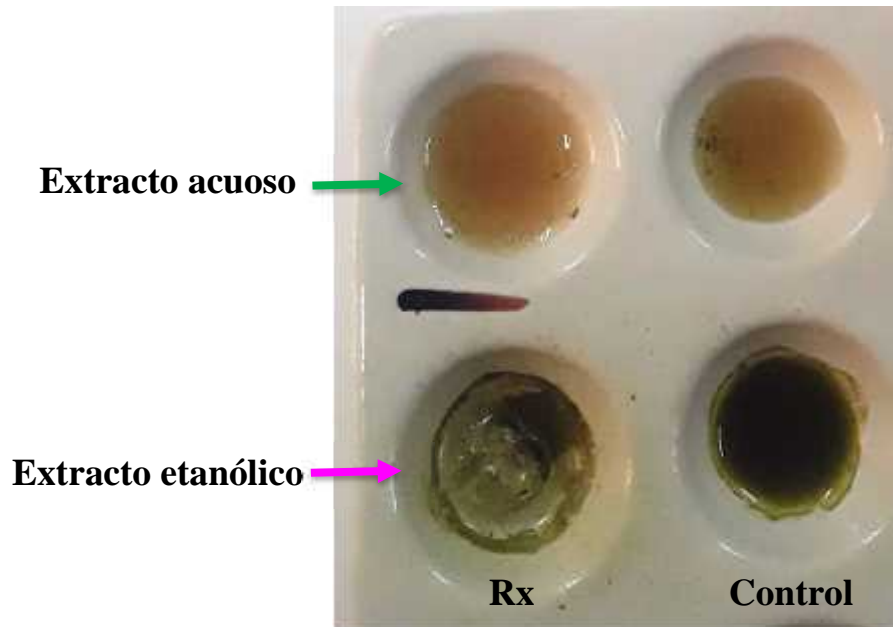
. *Staphylococcus aureus*

. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina MRSA

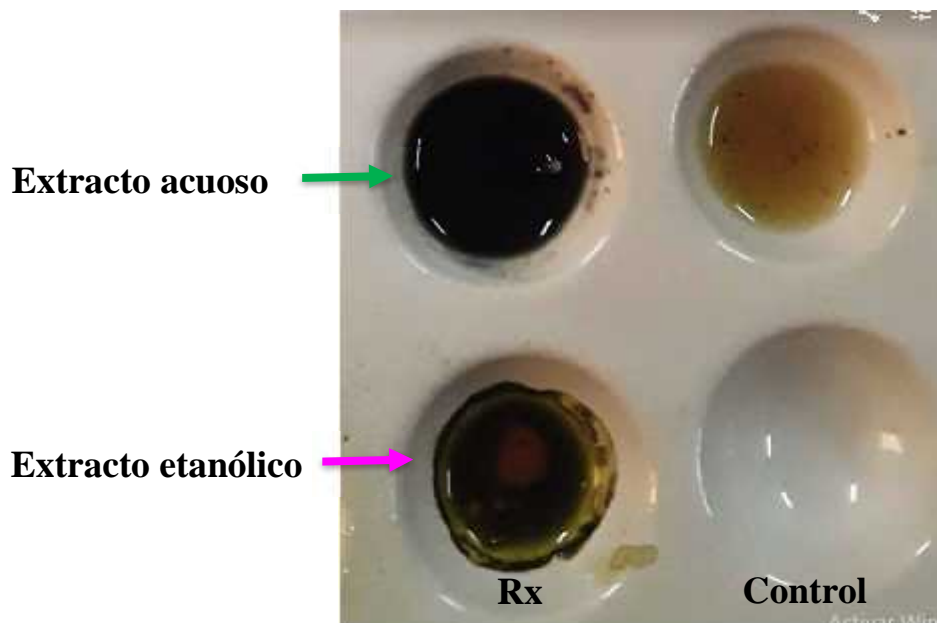




➤ **Shinoda (flavonoides)**



➤ **FeCl₃ (fenoles)**



➤ **Baljet**
alfa-beta

(Lactonas
insaturadas)



➤ **Bortränger**

Se unieron las dos fases no hubo Rx



➤ **Gelatina**

No se observó

precipitado



➤ **Liebermann burchard**

No hubo

presencia de anillo esteroidal



Nota:

El extracto acuoso presento una consistencia espesa y mucilaginosa.

El extracto etanólico presento una coloración verde oscura intensa.

SCREENING O TAMIZAJE FITOQUÍMICO

- **Antibacteriano.** - Se le llama así a la sustancia, medicamento o procedimiento que se usa para combatir las bacterias.
- **ATCC.** – El American Type Culture Collection es un organismo que se encarga de adquirir, autenticar, producir, conservar, desarrollar y distribuir los microorganismos con una referencia estándar.
- **Cepas.** – Grupo de microorganismos que se derivan de múltiples divisiones de una célula inicial.
- **Cromatografía en capa fina.** – La fase estacionaria es una capa uniforme de un absorbente sobre una placa, la cual podría ser de vidrio, aluminio u otro soporte. La placa cromatográfica consiste en una estacionaria polar (comúnmente se utiliza sílica gel) adherida a una superficie sólida.
- ❖ **Ensayo de Borntrager:** En 10 ml de benceno se agrega 0.2 g de muestra vegetal, se agita de forma correcta y se filtra por gravedad. Al filtrado se añade 5 ml de solución de amonio 10% y agitar. Una coloración rosada, roja o violeta en la fase amoniaca señala la presencia de antraquinonas.
- **Flavonoides.** - Pigmentos naturales que se encuentran en vegetales y también protegen al organismo del daño producto de agentes oxidantes y previenen la gomosidad de las plaquetas y su aglomeración; protegen el sistema vascular y fortalecen a los pequeños capilares que llevan oxígeno y otros nutrientes esenciales a todas las células.
- **Inhibición.** - Reducción o parar las funciones normales de una parte del organismo de forma mental o química.

- ❖ Liebermann –Burchad: Añadir a 0.2 g de muestra, 2 ml de ácido acético y enfriar con hielo. Luego de asegurar estar frío añadir ácido sulfúrico concentrado (con cuidado): Desarrollo de coloración violeta, azul o azul verdoso indica la presencia de un anillo esteroidal, una porción aglicona de un glicósido cardíaco

- **Metabolitos secundarios.** - antiguamente se creía, que eran productos de desecho, hoy se conoce que son muy necesarios para la vida de las plantas; una gran variedad proveen un mecanismo de defensa contra el ataque de bacterias, virus y hongos, análogo al sistema de inmunidad de los animales.
- ❖ Reacción de Rosenheim: A 1 ml de muestra se agrega 0.5 ml de HCl cc, se combina y se deja hervir 10 minutos. Posteriormente se enfría y agrega 2 ml de alcohol amílico (propanol), se agita y se deja reposar observando el color en la fase amílica (acuosa). Si se observa un color rojo intenso o rosado en dicha fase, indicaría que es positiva, lo cual también indicaría la presencia de leucoantocianidinas, si es marrón, indica catequinas.
- ❖ Reacción de Shinoda: Calentar 0.5 gramos de muestra disueltos en etanol y luego filtrar. Agregar 2 ó 3 pedazos de magnesio al filtrado y luego añadir HCl concentrado. Coloración rosa, naranja o roja indica la presencia de flavonoides.
- ❖ Reactivo de Dragendorff: está compuesto por tetrayodo bismuto de potasio y puede indicar la presencia del alcaloide con la formación de un precipitado naranja rojizo cuando se le adiciona a la solución ácida que contiene los alcaloides.
- ❖ Reactivo de Mayer: (mercurio tetrayoduro de potasio) Los alcaloides se detectan como un precipitado blanco o de color crema soluble en ácido acético y etanol.
- ❖ Reactivo de Wagner: Se emplea para la caracterización no específica de alcaloides. La mayoría de los alcaloides reaccionan dando un precipitado blanco

o amarillo claro, amorfo o cristalino.¹ El precipitado (una sal compleja) puede disolverse posteriormente en algún solvente menos polar para su identificación.

- **Saponinas.** - comprenden cada uno de los glucósidos naturales derivados de los triterpenos y esteroides, mediante agitación en el agua forman espuma, lo que reduce la tensión superficial del agua.
- **Screening fitoquímico** o tamizaje fitoquímico. - es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés.