



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A *Cutibacterium  
acnes* Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS  
HIDROALCOHÓLICOS DE LAS HOJAS, FLORES, TALLO  
Y RAÍZ DE *Hypericum silenoides* Juss  
“CANCHALAGUA”.**

Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico

Presentado por:

**Br. Moy Diaz, Brenda**

**Br. Ortiz Arévalo, Yesenia Edith**

Asesor:

**Dr. Félix Veliz, Luis Miguel**

Lima - Perú

2020

## DEDICATORIA

A Dios, quien me guió por el buen camino, por darme fuerzas y sabiduría para seguir.

A mi familia, quienes por ellos soy lo que soy, por sus consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar.

A mis profesores, por sus enseñanzas, apoyo y consejos sobre mi carrera e investigaciones.

Gracias, también, a mis queridos compañeros, que me apoyaron y me permitieron entrar en su vida.

**Br. Moy Díaz, Brenda**

A Dios, por haberme sostenido todo este tiempo con su amor inagotable.

A mis padres, por su apoyo incondicional.

A mis hermanos en Cristo, por sus consejos y motivaciones.

A mis maestros, por todo el conocimiento impartido.

A mis amigos, por brindarme su amistad y apoyo desinteresado.

A Alvaro, por sus correcciones fianles.

**Br. Ortiz Arévalo, Yesenia Edith**

## **AGRADECIMIENTOS**

Nuestro agradecimiento a nuestra Universidad Norbert Wiener, donde nos brindaron los conocimientos necesarios para la formación de nuestra carrera y nos formaron profesionalmente.

A nuestros familiares, por su paciencia, comprensión y amor a lo largo de cada etapa de nuestra vida.

A nuestro asesor Dr. Luis Miguel Félix Veliz, quien nos guió y nos orientó en la elaboración del presente trabajo de investigación.

A los miembros del jurado calificador, por el tiempo dedicado en revisión y corrección del presente trabajo.

Un genuino agradecimiento, por el apoyo y la colaboración en la realización del presente trabajo, al Mg. Lizardo Alfredo Guillen Oneeglio y Lic. Pedro Yvan Saenz Rivera, por brindarnos datos y consejos para desarrollar el presente trabajo.

**Br. Moy Diaz, Brenda**

**Br. Ortiz Arévalo, Yesenia Edit**

# ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	iii
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	vi
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	ix
<b>RESUMEN</b>	xi
<b>ABSTRACT</b>	xii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
- Situación Problemática	2
- Marco teórico referencial	4
- Estudios antecedentes	15
- Importancia y justificación de la investigación	22
- Objetivo del estudio	23
- Hipótesis de investigación	23
<b>II. MATERIALES Y MÉTODO</b>	24
2.1. Enfoque y diseño	24
2.2. Población, muestra y muestreo	24
2.3. Variables de estudio	26
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	26
2.5. Proceso de recolección de datos	27
2.5.1. Autorizaciones y cordinaciones previas para la recolección de datos	27
2.5.2. Aplicación de instrumentos de recolección de datos	27
2.6. Método de análisis estadístico	41
2.7. Aspectos bioéticos	41
<b>III. RESULTADOS</b>	42
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	81
4.1. Discusiones	81
4.2. Conclusiones	86
4.3. Recomendaciones	87
<b>CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	88

<b>ANEXOS</b>	97
<b>Anexo A:</b> Caserío Huasmín, Provincia de Celendín, Departamento de Cajamarca.	98
<b>Anexo B:</b> Constancia botánico <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua” del Herbario del Departamento de Biología de la Universidad Nacional Agraria la Molina.	99
<b>Anexo C:</b> Secado de la especie vegetal recolectada <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua” en el Centro de Investigación Farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener.	100
<b>Anexo D:</b> Preparación e incubación de la cepa <i>Cutibacterium acnes</i> .	101
<b>Anexo E:</b> Preparación e incubación de las cepas y placas con medio de cultivo agar Brucella suplementado con sangre de carnero.	102
<b>Anexo F:</b> Estudio microbiológico de <i>Cutibacterium acnés</i> con las muestras de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	103
<b>Anexo G:</b> Estudio microbiológico de <i>Cutibacterium acnes</i> con las muestras de discos de sensibilidad.	104
<b>Anexo H:</b> Determinación de la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	105
<b>Anexo I:</b> Instrumentos de recolección de datos del estudio microbiológico.	106
<b>Anexo J:</b> Instrumentos de recolección de datos del estudio antioxidante.	108
<b>Anexo K:</b> Certificado de análisis de la cepa <i>Cutibacterium acnes</i> ATCC 6919.	109
<b>Anexo L:</b> Certificados de análisis de los discos de sensibilidad de doxiciclina, clindamicina, eritromicina y tetraciclina.	110
<b>Anexo M:</b> Certificado de aseguramiento de calidad del Agar Brucella.	114
<b>Anexo N:</b> Certificado de análisis de sangre de cordero, estéril.	115
<b>Anexo O:</b> Certificado cualitativo de seguridad Anaerogen 2,5 L.	116

<b>Anexo P:</b>	Certificado de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH).	117
<b>Anexo Q:</b>	Certificado de Trolox.	118
<b>Anexo R:</b>	Certificado de análisis de Metanol.	119
<b>Anexo S:</b>	Registro de verificación y mantenimiento del Espectrofotometro Thermo scientific.	120
<b>Anexo T:</b>	Matriz de consistencia de investigaciones.	121
<b>Anexo U:</b>	Operacionalización de Variables.	123

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Tabla de pesos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”	24
<b>Tabla 2.</b> Prueba de solubilidad de extractos hidroalcohólicos secos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	42
<b>Tabla 3.</b> Analisis cualitativo de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	43
<b>Tabla 4.</b> Actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	44
<b>Tabla 5.</b> Prueba de homogeneidad de varianzas del IC50 de Trolox y los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	46
<b>Tabla 6.</b> Prueba de Kruskal Wallis para las distribuciones de IC50 del Trolox y los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	47
<b>Tabla 7.</b> Prueba de comparaciones múltiples Games-Howell para las distribuciones de IC50 del Trolox y los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	47
<b>Tabla 8.</b> Estadísticas descriptivas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	49
<b>Tabla 9.</b> Pruebas de normalidad del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	52
<b>Tabla 10.</b> Prueba de Kruskal Wallis del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	54

<b>Tabla 11.</b>	Comparaciones del efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua” y los grupos controles (Comparaciones múltiples Games-Howell).	55
<b>Tabla 12.</b>	Estadísticas descriptivas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico del tallo de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	56
<b>Tabla 13.</b>	Pruebas de normalidad del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico del tallo de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	59
<b>Tabla 14.</b>	Prueba de Kruskal Wallis del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico del tallo de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	61
<b>Tabla 15.</b>	Comparaciones del efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico del tallo de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua” y los grupos controles (Comparaciones múltiples Games-Howell).	62
<b>Tabla 16.</b>	Estadísticas descriptivas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	63
<b>Tabla 17.</b>	Pruebas de normalidad del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de la raíz <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	66
<b>Tabla 18.</b>	Prueba de Kruskal Wallis del diámetro de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	68
<b>Tabla 19.</b>	Comparaciones del efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua” y los grupos controles (Comparaciones múltiples Games-Howell).	69
<b>Tabla 20.</b>	Estadísticas descriptivas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	70

<b>Tabla 21.</b>	Pruebas de normalidad del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	73
<b>Tabla 22.</b>	Prueba de Kruskal Wallis del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	75
<b>Tabla 23.</b>	Comparaciones del efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua” y los grupos controles (Comparaciones múltiples Games-Howell).	76
<b>Tabla 24.</b>	Estadísticas descriptivas del diámetro de halo de inhibición en mm de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua” (Actividad antibacteriana frente a <i>Cutibacterium acnes</i> ).	77
<b>Tabla 25.</b>	Prueba de homogeneidad de varianzas de la actividad antibacteriana (Diámetro del halo de inhibición) por dilución.	79
<b>Tabla 26.</b>	Prueba de Kruskal Wallis de la actividad antibacteriana de los de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua” (Diámetro del halo de inhibición) por dilución.	79
<b>Tabla 27.</b>	Comparaciones múltiples Games-Howell de la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua” (Diámetro del halo de inhibición) por dilución.	80

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Especie <i>Hypericum silenoides</i> Juss (hoja, flor)	7
<b>Figura 2.</b> Interacción entre radicales libres y antioxidantes	10
<b>Figura 3.</b> Algoritmo para el tratamiento del acné: Consenso Ibero-Latinoamericano, 2016.	14
<b>Figura 4.</b> Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	35
<b>Figura 5.</b> Procedimiento experimental de la actividad antioxidante de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	38
<b>Figura 6.</b> Procedimiento experimental de la actividad antibacteriana de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	40
<b>Figura 7.</b> Valor IC 50 de la Actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua” y Trolox.	45
<b>Figura 8.</b> Distribución del Valor IC 50 del Trolox y los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	46
<b>Figura 9.</b> Gráfica de medias del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	51
<b>Figura 10.</b> Diagrama de cajas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	53
<b>Figura 11.</b> Gráfica de medias del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico del tallo de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	58
<b>Figura 12.</b> Diagrama de cajas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico del tallo de <i>Hypericum silenoides</i> Juss “Canchalagua”.	60

- Figura 13.** Gráfica de medias del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”. 65
- Figura 14.** Diagrama de cajas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”. 67
- Figura 15.** Grafica de medias del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las flores de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”. 72
- Figura 16.** Diagrama de cajas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las flores de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”. 74
- Figura 17.** Medias marginales estimadas de los diámetros de los halos de inhibición en mm de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” 78

## RESUMEN

La especie *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” del departamento de Cajamarca, es una planta nativa con diversas aplicaciones medicinales. La presente investigación tuvo como **Objetivo** determinar la actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* y antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”. El **Método** empleado consistió en la preparación de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss, se realizó prueba de solubilidad y análisis cualitativo para identificar los metabolitos. Para determinar la actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* (ATCC 6919), se realizó el método de difusión en disco, y para su actividad antioxidante, se evaluó mediante el método de radicales libres 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). Los **Resultados** en el ensayo microbiológico mostró que el grupo control positivo presentó mayor diámetro de halo de inhibición comparado a los extractos de la especie vegetal estudiada; el extracto hidroalcohólico de las flores presenta mayor actividad antibacteriana comparado con los extractos hidroalcohólicos de las hojas, tallo y raíz. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” presenta mayor actividad antioxidante con un IC50 de 54,53 µg/mL, seguido del extracto hidroalcohólico de las flores con un IC50 de 57,05 µg/mL, comparado con el control (Trolox) con un  $p < 0,05$ . En **Conclusión**, los extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz tienen actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* y antioxidante.

**Palabras clave:** Metabolitos secundarios, *Hypericum silenoides* Juss, *Cutibacterium acnes*, Actividad antibacteriana, Actividad antioxidante.

## ABSTRACT

The *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” species from the department of Cajamarca, is a native plant with various medicinal applications. The present investigation had **objective** the determine the antibacterial activity against *Cutibacterium acnes* and antioxidant of the hydroalcoholic extracts of the leaves, flowers, stem and root of *Hypericum silenoides* Juss "Canchalagua". The **method** used consisted in the preparation of the hydroalcoholic extracts of the leaves, flowers, stem and root of *Hypericum silenoides* Juss, a solubility test and qualitative analysis were carried out to identify the metabolites. To determine the antibacterial activity against *Cutibacterium acnes* (ATCC 6919), the disk diffusion method was performed, and for its antioxidant activity, it was evaluated by the 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl free radical method (DPPH ). The **Results** in the microbiological test it showed that the positive control group presented a greater diameter of the inhibition halo compared to the extracts of the studied plant species; the hydroalcoholic extract of the flowers has greater antibacterial activity compared to the hydroalcoholic extracts of the leaves, stem and roots. The hydroalcoholic extract of the leaves of *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” presents higher antioxidant activity with an IC50 of 54.53 µg / mL, followed by the hydroalcoholic extract of the flowers with an IC50 of 57.05 µg / mL, compared to the control (Trolox) with a p <0.05. In **conclusion**, the hydroalcoholic extracts of leaves, flowers, stem and roots have antibacterial activity against *Cutibacterium acnes* and antioxidant.

**Keywords:** Secondary metabolites, *Hypericum silenoides* Juss, *Cutibacterium acnes*, Antibacterial activity, Antioxidant activity

## I. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) fomenta la investigación de la medicina tradicional por ser una opción natural, inocua y eficaz, además de ser económica y accesible; en el documento “Estrategia de la OMS de medicina tradicional 2014-2023”, recomienda el uso racional de la medicina tradicional basado en pruebas científicas.<sup>(1,2)</sup> En el Perú, existe una alta tasa de migración entre departamentos; por ello, el uso y costumbres de la medicina tradicional se transmiten y se adaptan de generación en generación de manera que se basa en la cosmovisión andina.<sup>(3)</sup> Se han realizado algunos estudios de las especies vegetales del género *Hypericum*, en donde se han evaluado diferentes acciones farmacológicas y se ha podido observar que esta especie vegetal tiene acción antiséptica, antidepresiva, analgésica, diurética, antioxidante, cicatrizante y antimicrobiana. Todo esto, gracias a que posee metabolitos secundarios con gran actividad farmacológica; entre estos están: Quinonas, Flavonoides, Taninos, Xantonas y Terpenos.<sup>(4-6)</sup>

El acné vulgar es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta a más de 40 millones de personas en todo el mundo, con mayor frecuencia en adolescentes. Es una patología de origen multifactorial como son la hipersecreción sebácea condicionada por estimulación androgénica, proliferación de *Cutibacterium acnes*, cambios en la microbiota cutánea y alteraciones de la inmunidad innata. Esta enfermedad, en sus formas más graves, puede causar secuelas físicas y psicológicas.<sup>(7,8)</sup> El tratamiento de esta enfermedad, en caso de proliferación de *Cutibacterium acnes*, se enfoca directamente hacia la reducción de la placa bacteriana, por lo que usa la combinación de retinoides tópicos, peróxido de benzoilo tópico y antibióticos orales.<sup>(9)</sup>

Algunos estudios científicos sobre el acné vulgar tratado con antibióticos concluyen que estos no son muy eficaces, puesto que se han reportado algunos casos de resistencia bacteriana;<sup>(7)</sup> los investigadores recomiendan reducir el uso de antibióticos para que puedan ser eficaces frente a las bacterias, por lo tanto, la alternativa propuesta son el consumo de especies vegetales que demuestran una actividad antibacteriana.<sup>(10)</sup>

Por otra parte, debido a la existencia de metabolitos en las especies vegetales del género *Hypericum*.<sup>(11)</sup> Se optó por evaluar también su actividad antioxidante para evitar la formación de radicales libres derivados de oxígeno, ya que el estrés oxidativo es inducido por el aumento de producción de especies reactivas del oxígeno, que conlleva a cambios fisiológicos y bioquímicos en el cuerpo y son de relevancia clínica significativa.<sup>(12)</sup>

La presente investigación propone el uso de la planta *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” como una opción de agente antioxidante y antibacteriana natural que permita inhibir el crecimiento de *Cutibacterium acnes*, principal bacteria causante del acné.<sup>(13)</sup> El estudio se realizó *in vitro* mediante el método difusión en discos<sup>(14)</sup> y el método de radicales libres 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH)<sup>(15)</sup> con el objetivo de determinar la actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz de dicha especie vegetal.

#### - **Situación Problemática**

El acné vulgar es el principal motivo de consultas al dermatólogo, dado que es una enfermedad multifactorial que afecta a más de 40 millones de personas en todo el mundo, y tiene una prevalencia de 80%-90% en adolescentes y en adultos jóvenes. Esta provoca problemas para la salud física, psicológica y social, debido a que puede durar muchos años causando cicatrices.<sup>(8,16)</sup> El *Cutibacterium acnes*, es una bacteria gram-positiva, anaeróbica y lipofílica, es el principal microorganismo implicado en la patología del acné, debido a que esta participa en los cambios celulares de los queratinocitos provocando liberación directa de productos pro inflamatorios como proteasas, lipasas, hialuronidasas y factores quimiotácticos de polimorfo nucleares, linfocitos y macrófagos.<sup>(17)</sup> Por lo tanto, es tratado con antibióticos como la clindamicina, eritromicina y doxiciclina; sin embargo, la resistencia a estos antibióticos aumentó a lo largo del tiempo.<sup>(7)</sup> En estos tiempos, las resistencias a antibióticos han aumentado con referencia a una monoterapia con clindamicina y eritromicina. En Europa, según estudios, se mostró una resistencia de clindamicina y eritromicina en un 70% en 1997.

Asimismo, en América Latina; específicamente en los países de Colombia y Chile, fueron 15% y 7,5% respectivamente, en el 2013, la resistencia a estos medicamentos: esto se debe a mutaciones en genes del cromosoma bacteriano.<sup>(7, 18,19)</sup> En las últimas décadas se ha demostrado la eficiencia terapéutica de muchas preparaciones elaboradas en base a plantas medicinales, por lo que se han convertido en una alternativa válida a los antibióticos sintéticos en infecciones producidas por bacterias.<sup>(10, 20)</sup>

Así mismo el acné vulgar esta también está relacionado con el aumento de la liberación de radicales libres, que influyen en los procesos inflamatorios de la piel.<sup>(21)</sup>

Por otra parte, las enfermedades crónicas han aumentado su incidencia y prevalencia desde el siglo pasado como consecuencia de múltiples factores, y es un problema de salud en las sociedades contemporáneas.<sup>(22)</sup> Se sabe que hay enfermedades relacionadas con el desbalance del sistema oxidativo, como son: Cardiovasculares, cancerígenas, gástricas, respiratorias, neurológicas, del sistema endocrino y enfermedades inflamatorias, como el acné. Este desbalance es resultado del incremento de radicales libres por déficit de antioxidantes en el organismo, y produce el estrés oxidativo,<sup>(23,24)</sup> el cual puede ser ocasionado por dos causas: la primera, por factores endógenos (metabolismo propio del cuerpo y procesos inflamatorios); La segunda, por factores exógenos como son el tabaquismo, radiación ultravioleta, dieta hipercalórico, hidrocarburos.<sup>(25)</sup> Sin embargo, se sugiere, para prevenir el daño oxidativo, el consumo de alimentos que contengan compuestos fitoquímicos que sean antioxidante.<sup>(26)</sup>

La presente investigación permitirá demostrar la actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”, con el fin de considerarlo como una alternativa en el tratamiento del acné y enfermedades crónicas.

## Formulación del problema

¿Tendrá actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* y antioxidante, los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”?

### - Marco teórico referencial

#### 1.1. *Hypericum silenoides* Juss

##### Características de la familia *Hypericaceae*

La *Hypericaceae* representa a 9 géneros y aproximadamente 540 especies. Abarca desde hierbas anuales o perennes, su frútices, arbustos y pequeños árboles. Presenta distribución casi cosmopolita excepto por zonas muy frías o muy desérticas. <sup>(27)</sup> En el Perú, se encuentran 34 especies, aproximadamente en los géneros *Hypericum* y *Vismia*. <sup>(28)</sup>

##### Género *Hypericum* L.

El nombre *Hypericum* (del griego hyper, arriba, y eikon, imagen) fue dado por los griegos a las plantas que solían colgar sobre sus figuras religiosas para alejar a los espíritus malignos. No se conoce con certeza la especie que se usaba en ese entonces, aunque varios autores han sugerido que podría tratarse de *Hypericum empetrifolium* Willd, *Hypericum triquetrifolium* Turra. <sup>(29)</sup> género con aproximadamente 490 especies, <sup>(30)</sup> de distribución casi cosmopolita, principalmente de zonas templadas y montañas tropicales. <sup>(27)</sup> Guzmán-Teare & Ricketson <sup>(28)</sup> reportan 14 especies en el territorio peruano, las cuales ocupan un rango altitudinal de 500 a 4500 m.s.n.m. La siguiente lista resume las especies vegetales conocidas:

1. *Hypericum aciculare* Kunth
2. *Hypericum brevistylum* Choisy
3. *Hypericum callacallanum* N. Robson
4. *Hypericum cassiopiforme* N. Robson

5. *Hypericum decandrum* Turcz
6. *Hypericum laricifolium* Juss.
7. *Hypericum loxense* Benth.
8. *Hypericum mutilum* L.
9. *Hypericum recurvum* N. Robson
10. *Hypericum silenoides* Juss.
11. *Hypericum sprucei* N. Robson
12. *Hypericum struthiolifolium* Juss.
13. *Hypericum stuebelii* Hieron.
14. *Hypericum wurdackii* N. Robson

### **Especie vegetal *Hypericum Silenoides* Juss**

Es una hierba anual o perenne de 10 - 60 cm alto, erecta o a veces decumbente y radicante, usualmente ramificada en la base, con ramas laterales ascendentes. <sup>(29)</sup>

### **Descripción taxonómica**

Clasificación Taxonómica de la especie *Hypericum silenoides* Juss. Según el sistema de clasificación APG III (Angiosperm Phylogeny Group III, 2009), es la siguiente: **(Ver Anexo B): Pag. 99**

**Clado:** Angiospermas (Angiospermae)

**Clado:** Mesangiospermas (Mesangiospermae)

**Clado:** Eudicotiledóneas (Eudicotyledoneae)

**Clado:** Gunneridas (Gunneridae)

**Clado:** Pentapetalas (Pentapetalae)

**Clado:** Rósidas

**Clado:** Fábidas

**Orden:** *Malpighiales*

**Familia:** *Hypericaceae*

**Género:** *Hypericum* L.

**Especie:** *Hypericum silenoides* Juss.

## Descripción botánica

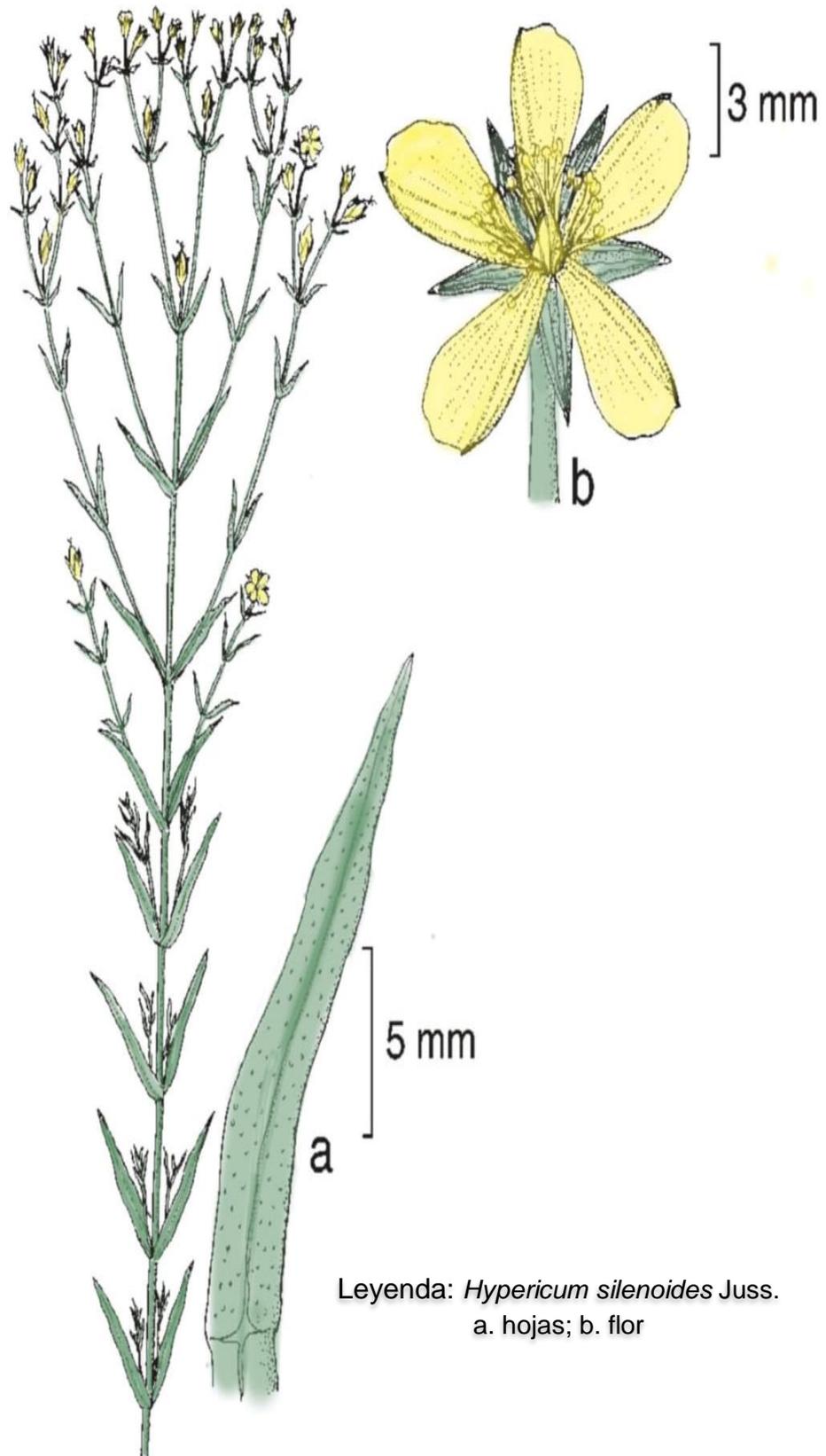
Se caracteriza a la especie vegetal *Hypericum silenoides* Juss por su: <sup>(31)</sup>

- a) **Tallos** cuadrángulos, corteza persistente o exfoliante, erectos o decumbentes, ramificados desde la base, en ocasiones teñidos de rojo, entrenudos de 1,5 a 3 cm de largo.
- b) **Hojas** sésiles, linear-lanceoladas, elípticas oblongas, láminas de 0,7 a 3,5 cm de largo por 1 a 9 mm de ancho, base delgada a redondeada, ápice delgado a redondeado, margen entero, a veces incurvado, puntuaciones glandulares densas y pequeña.
- c) **Inflorescencias** en forma de cimas terminales compuestas con 3 a 15 flores, brácteas linear-lanceoladas, de 2 a 5 mm de largo, pedicelos de 2 a 4 mm de largo; sépalos lanceolados, de 4 a 6 mm de largo, con glándulas lineares; pétalos amarillos o anaranjados con frecuencia teñidos de rojo, oblongo-lanceolados, de 5 a 7 mm de largo, estambres hasta 30, juntados por su base en pares o en grupos de 3 a 5; ovario de 0,8 a 2 mm de largo, estilos típicamente 3, de 1 a 1,5 mm de largo, estigmas capitados. Cápsula elipsoide, de 4 a 8 mm de largo.

## Distribución y hábitat

El *Hypericum silenoides* Juss se distribuye en Sudamérica, donde abarca Colombia, Ecuador (también en las Islas Galápagos), Perú, Bolivia, Chile y Argentina, con un rango altitudinal de 0 a 3900 msnm. <sup>(31)</sup>

En el Perú, las poblaciones de *Hypericum silenoides* ocupan los departamentos de Piura, Cajamarca, Amazonas, La Libertad, Áncash, Huánuco, Junín, Lima, Arequipa, Ayacucho, Cusco y Puno. Su presencia ha sido reportada desde la zona costera hasta zonas con pastizales alto andinos, desde casi 500 m a 3900 msnm. <sup>(28)</sup>



Leyenda: *Hypericum silenoides* Juss.  
a. hojas; b. flor

**Figura 1.** Especie *Hypericum silenoides* Juss (hoja, flor). <sup>(31)</sup>

## Nombre vulgares

También se le conoce, habitualmente como “H’antun wamal”, “sanguinaria”, “taxinoxihuitl”, “tenchalita”, “tlanchalagua”, <sup>(31)</sup> “Cintaura”, Canchalagua. <sup>(32)</sup>

## Propiedades Terapéuticas

En la medicina tradicional, el *Hypericum silenoides* Juss es utilizado para aliviar el dolor de muela, <sup>(32)</sup> diarrea y disentería; <sup>(33)</sup> sin embargo, en estudios recientes, se ha determinado que la especie del género *Hypericum* tiene un potencial en actividad antimicrobiana frente a bacterias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cutibacterium acnes*. <sup>(6, 34, 35)</sup>

## Composición química

los análisis cualitativos del *Hypericum silenoides* Juss se han reportado que contienen antocianina, quinonas y cardiotónica.<sup>(36)</sup> También, a través de cromatografía líquida de alto rendimiento, detectaron ácidos clorogénicos, quercetina, e hiperforina.<sup>(37)</sup> Además, en el extracto del aceite esencial, los componentes más sobresalientes que se reportaron fueron n-Nonane,  $\alpha$ -Pinene, n-Decanal, n-Dodecanal, alcanos, alquenos, hidrocarburos monoterpenos, monoterpenos oxigenados, hidrocarburos sesquiterpénicos.<sup>(38)</sup> Flavonoides, derivados del ácido cafeico, xantonas y derivados del floroglucinol. <sup>(39)</sup>

### 1.2. Antioxidantes

Son compuestos químicos utilizados para retrasar o neutralizar la acción oxidante de los radicales libres de diversas sustancias, especialmente de los ácidos grasos. Actúan donando electrones y evitando que los radicales libres los capten de las células. <sup>(40)</sup> También, favorecen el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, y permite reducir los efectos del estrés oxidativo y eliminar los radicales libres. Los antioxidantes ayudan a prevenir el envejecimiento prematuro, muerte celular, enfermedades

crónico-degenerativas como cardiopatías, diabetes, enfermedades neuro-degenerativas y cáncer. <sup>(41, 42)</sup>

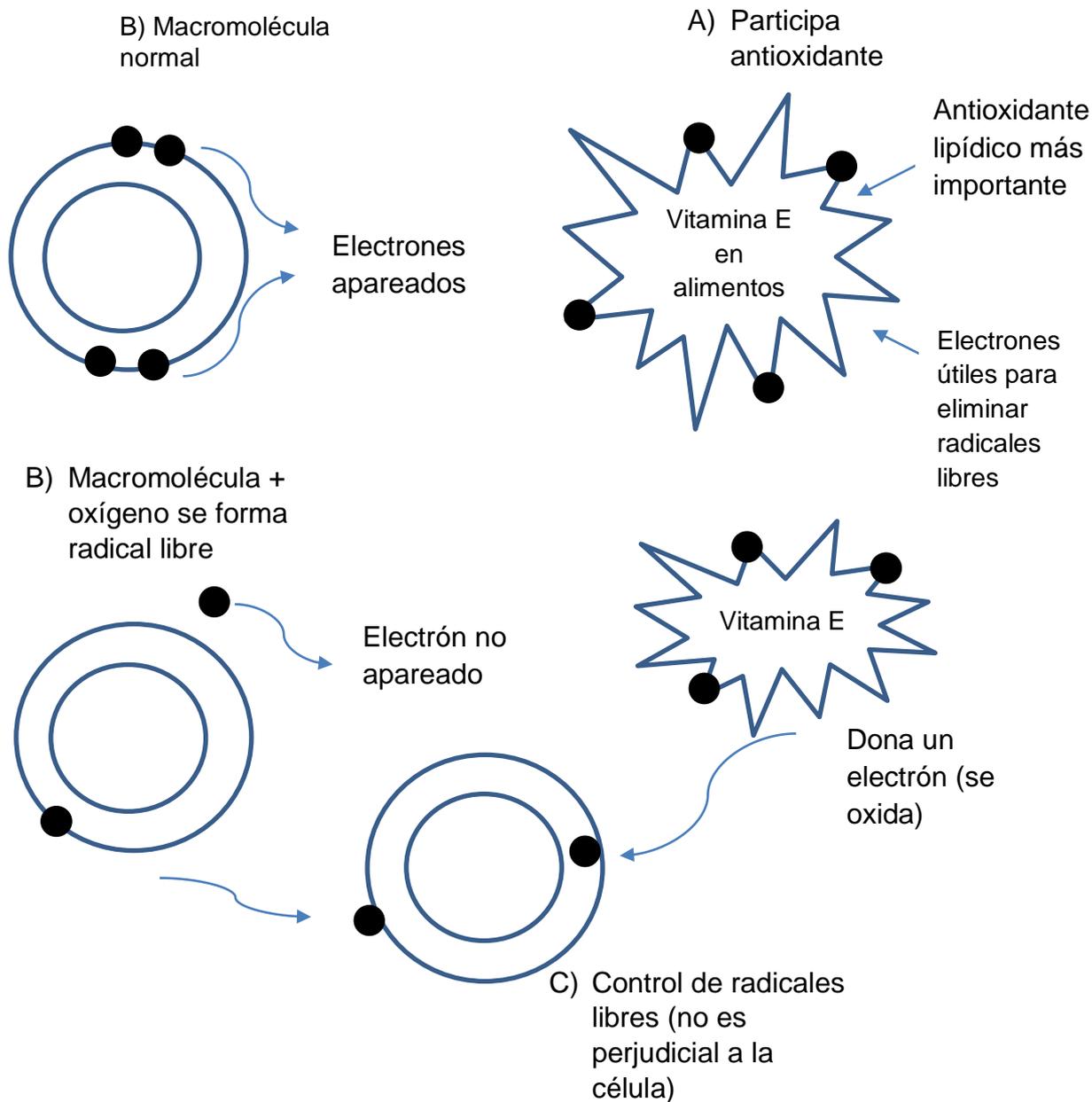
### **Radicales libres**

Son átomos o moléculas químicas inestables de alta energía con uno o más electrones desapareados en el último orbital, son capaces de reaccionar y unirse de forma inespecífica con múltiples biomoléculas estables para obtener estabilidad electroquímica, mediante reacciones de óxido-reducción (redox) para convertirse en átomos o moléculas estables y menos reactivas. Los radicales libres buscan electrones de otras moléculas tales como ácidos grasos, ADN, lípidos en las membranas celulares y en las proteínas de los tejidos corporales. También forman otros radicales libres en cadena, su vida media es de microsegundos, pero ocurre una rápida propagación con las moléculas aledañas y mayor daño potencial. Un radical libre puede afectar 1 millón de moléculas durante la reacción en cadena. <sup>(41-44)</sup>

Se forman naturalmente en el organismo humano participando en diferentes funciones fisiológicas de la célula, sistemas de señalización celular y defensa contra agentes infecciosos. Sin embargo, en concentraciones altas, son peligrosos para el organismo y pueden dañar las células, el ADN, las proteínas y las membranas celulares. <sup>(23, 40)</sup>

### **Estrés oxidativo**

Es el resultado del incremento excesivo de producción de radicales libres y un déficit en el sistema de defensa antioxidante, esto causa cambios fisiológicos y bioquímicos, y lleva al deterioro, muerte celular, peroxidación lipídica, daño de la membrana celular, rotura del ADN, degradación proteica, por lo que causa procesos patológicos como alteraciones cardiovasculares, desórdenes neurológicos, diabetes, cáncer, envejecimiento y enfermedades inflamatorias, como el acné. Mediante mecanismos de “regulación redox” se previene a los organismos vivos del estrés oxidativo. <sup>(23, 24, 45, 46)</sup>



**Figura 2.** Interacción entre radicales libres y antioxidantes. <sup>(23)</sup>

### 1.3. *Cutibacterium acnes*

*Cutibacterium acnes*, anteriormente llamado *Propionibacterium acnes* <sup>(47)</sup> es una bacteria gram-positiva, anaeróbica, no formadora de esporas y lipofílica; forma parte de la flora bacteriana de la cavidad bucal, el intestino grueso, la conjuntiva y el conducto auditivo externo y la piel. *Cutibacterium acnes* la bacteria más prevalente en las áreas sebáceas de la piel, y la que predomina en los folículos pilosebáceos, como la cara, la parte superior del tórax y la espalda. <sup>(17, 48)</sup> *Cutibacterium acnes* causa una variedad de infecciones, además de estar asociado con una serie de afecciones inflamatorias. Es reconocido principalmente por su papel en el acné vulgar, otras afecciones en las que se asocian es sinovitis, acné, pustulosis, hiperostosis y osteítis y la sarcoidosis. <sup>(49, 50)</sup>

#### **La piel**

La piel es el órgano más extenso del cuerpo, constituye el 15% del peso corporal y cubre aproximadamente 1,7 m<sup>2</sup> en el adulto promedio, <sup>(51)</sup> y presenta una amplia variedad de funciones como protección, termorregulación, sensación, secreción, función inmunológica, producción de vitamina D, excreción. <sup>(52)</sup>

La piel está constituida por tres capas:

- a) **La Epidermis:** Es la capa más externa que está constituida por queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel. Esta capa carece de vasos y nervios, pero es perforada por los anejos, unos glandulares (glándulas sebáceas y sudoríparas ecrinas y apocrinas) y otros queratinizados (pelos y uñas). <sup>(52)</sup>
- b) **La Dermis:** Está constituida por tejido conjuntivo, vasos, nervios y anexos de la piel. Contiene células como el fibroblasto, cuya función es la producción de fibras colágenas, reticulares y

elásticas; los macrófagos, con el poder fagocitario; mastocitos y células cebadas productoras de histamina y otras. <sup>(53)</sup>

**c) La Hipodermis:** Es la capa de tejidos adiposos donde se reserva de energía, amortigua la piel, conforma el cuerpo y permite la movilidad de la piel. <sup>(54)</sup>

## **Acné**

El acné es una enfermedad crónica inflamatoria de la piel, por lo que ocasiona pápulas, pústulas y nódulos que en su desarrollo dejan cicatrices, las áreas afectadas son la cara, tronco, tórax anterior y parte superior de la espalda. La patología del acné es multifactorial, involucra el exceso de producción de sebo, la liberación de radicales libres (influyen en los procesos inflamatorios de la piel), hiperqueratinización del conducto pilosebáceo, colonización de *Cutibacterium acnes*, factores hormonales y dieta. <sup>(9, 21, 55-57)</sup>

### **- Epidemiología:**

El acné es la segunda causa de consulta al dermatólogo y la octava enfermedad prevalente en el mundo, los adolescentes entre los 12 y 14 años son afectados en el 85%; y entre el 15 y 20% de pacientes entre 15 y 17 años tiene afectación moderada a grave. También afecta a adultos entre los 25 y 34 años en un 8%, y entre el 3% en adultos entre los 35 y 44 años. <sup>(18, 57, 58)</sup>

### **- Tratamiento del acné**

El objetivo terapéutico es regular la secreción sebácea, evitar la obstrucción folicular, la formación de microcomedones, suprimir la proliferación de *Cutibacterium acnes* y prevenir la cicatrización. El manejo apropiado del acné requiere de la selección adecuada de medicamentos de acuerdo con la presentación clínica y requerimientos particulares de cada paciente. <sup>(59, 60)</sup>

Los tratamientos del acné son:

1. Los antibióticos tópicos (clindamicina, eritromicina en combinación con peróxido de benzoílo)
2. Antibióticos orales de primera línea (doxiciclina, minociclina, eritromicina, tetraciclina, limesiclina)
3. Antibióticos orales de segunda línea (eritromicina, azitromicina, trimetoprim/sulfametoxazol), según figura 3. <sup>(47, 61, 62)</sup>

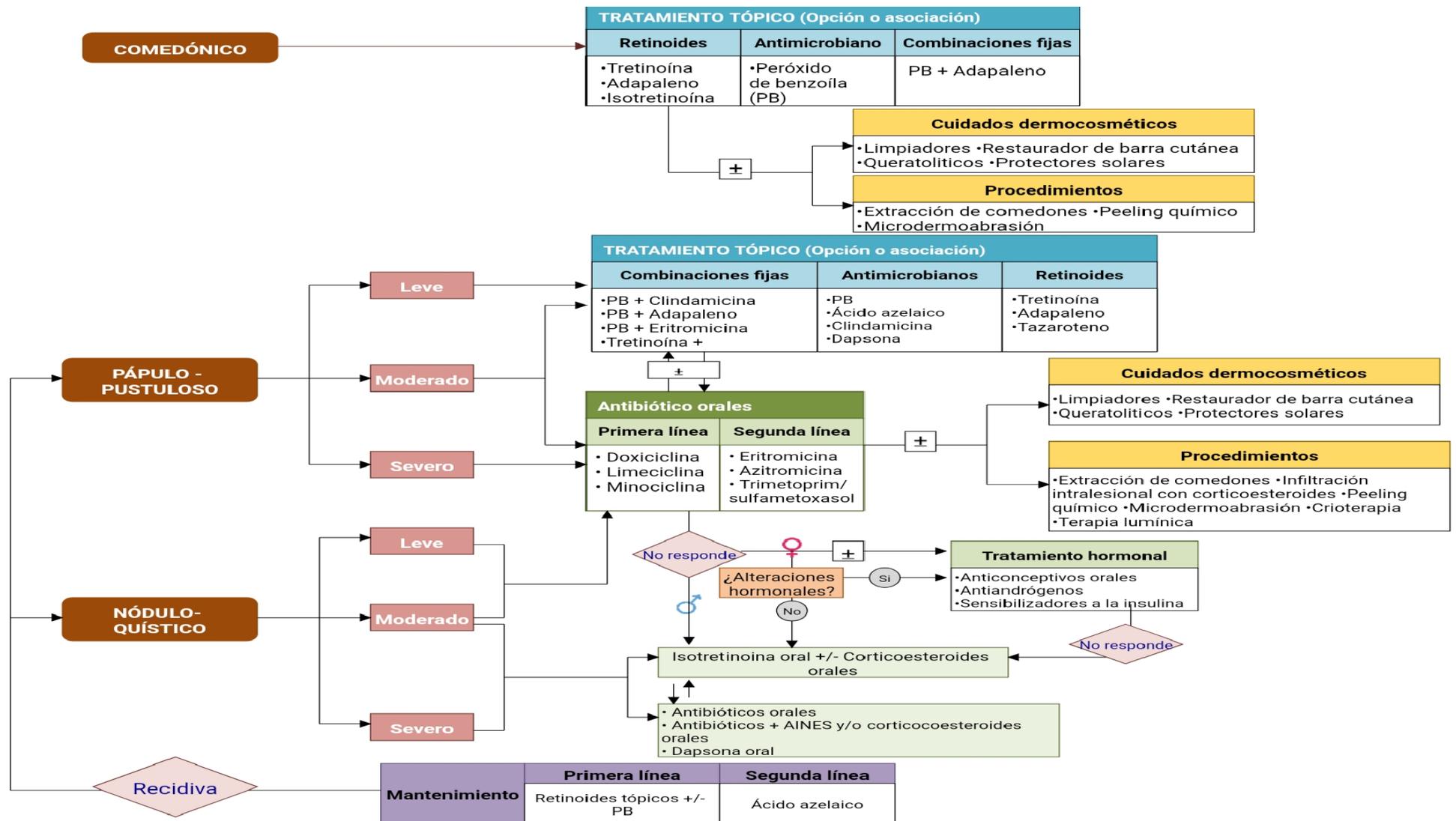


Figura 3. Algoritmo terapéutico del acné: Consenso Ibero-Latinoamericano, 2016. (62)

## - Estudios antecedentes

### Antecedentes Internacionales

Plazas E. (2017), Publico su trabajo de investigación titulado “Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana in vitro de extractos y fracciones de tres especies colombianas del género *Hypericum* L.”. Los **Objetivos** son: Determinar las características fitoquímicas preliminar y la actividad antibacteriana frentes a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli* de los extractos etanólicos de *Hypericum myricariifolium* Hieron, *Hypericum mexicanum* L. y *Hypericum juniperinun* Kunth. La **Metodología** consistió en la realización del tamizaje fitoquímico con el fin de determinar los metabolitos como alcaloides, terpenos, esteroides, fenoles, taninos, flavonoides, quinonas, cumarinas, saponinas, cardiotónicos. También se usó la técnica de difusión en pozo frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*. Los **Resultados** obtenidos demostraron que los extractos presentan fenoles, taninos y quinonas mientras la evaluación antibacteriana se observa la inhibición bacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis* obtienen 90% de *Hypericum myricarlifolium*, 73% de *Hypericum mexicanum*, 95% de *Hypericum juniperium*; en **Conclusión**, se determinó la presencia de flavonoides, taninos y quinonas como metabolitos secundarios de las especies vegetales estudiadas. También se evaluó la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólicos de *Hypericum myricariifolium* Hieron, *Hypericum mexicanum* L. y *Hypericum juniperinun* Kunth evidenciando la actividad inhibidora frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, por otra parte, el extracto etanólicos de *Hypericum myricariifolium* Hieron presenta mayor inhibición de *Escherichia coli* mientras las otras dos especies vegetales presenta menor actividad. <sup>(6)</sup>

Corza D. y Gaitán D. (2017), Publicaron su trabajo de investigación titulado “Evaluación de la efectividad de distintas formulaciones de jabón con extracto de *Hypericum mexicanum* L.” El **Objetivo** fue evaluar la efectividad desinfectante, en presentación de jabón líquido y sólido con extracto etanólico de *Hypericum mexicanum* L. en dos concentraciones. La **Metodología** que se

utilizó consistió en la elaboración de jabón líquido y sólido en concentraciones de 0,1% y 0,2% del extracto vegetal. Los jabones fueron evaluados por prueba de manipuladores donde se hizo un frotis de mano predominante antes y después del lavado. También, se usó la técnica de difusión en pozo frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*. Los **Resultados** obtenidos demostraron la actividad antibacteriana de *Hypericum mexicanum* L. frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*; por ello, en esta investigación se da la formulación de un jabón con extracto de *Hypericum mexicanum* L., la cual se enfrentó con las bacterias antes mencionadas, siendo el resultado que el jabón líquido con extracto *Hypericum mexicanum* L. Tiene actividad inhibitoria frente a los microorganismos. Como **Conclusión**, se puede desprender que el jabón líquido con extracto *Hypericum mexicanum* L. Tiene actividad antibacteriana. <sup>(34)</sup>

Zdunic G, et al. (2017), En el artículo “Comparative analysis of phenolic compounds in seven *Hypericum* species and their antioxidant properties”, se planteó como **Objetivo** la evaluación de la actividad antioxidante de siete especies de *Hypericum* (*Hypericum richeri* Vill., *Hypericum barbatum* Jacq., *Hypericum hirsutum* L., *Hypericum androsaemum* L., *Hypericum acutum* Mnch., *Hypericum maculatum* Crantz y *Hypericum perforatum* L.) mediante diferentes métodos *in vitro*, entre estos con el DPPH. La **Metodología** que se utilizó para determinar la actividad antioxidante fue mediante el ensayo DPPH; se realizó una serie de diluciones de los extractos de las muestras y se incorporó la solución de DPPH. Luego de 30 minutos de incubación, se llevó a medir la absorbancia a 517 nm. Como **Resultado**, obtenidos demuestran que la mayor actividad de DPPH mostró el extracto de *Hypericum maculatum* (EC50= 10,2 µg/mL) y *Hypericum acutum* (EC50= 10,9 µg/mL), siendo resultados más fuertes en comparación con la actividad del extracto de té verde liofilizado (EC50= 44,3 µg/mL). Las **Conclusiones** de este estudio confirman que todas las especies de *Hypericum* estudiadas son útiles para prevenir y tratar afecciones patológicas acompañadas de estrés oxidativo, donde las especies *Hypericum acutum* y

*Hypericum maculatum* son las especies más interesantes para futuras investigaciones <sup>(63)</sup>.

S. Wolfle U, et al. (2014), En el artículo “Topical application of St. John’s Wort (*Hypericum perforatum*)”, se planteó como **Objetivo** el describir las actividades comprobadas de la planta *Hypericum perforatum* L. (*St. John’s wort, SJW*) (*Hypericaceae*) que es usada tradicionalmente para tratar varias enfermedades dermatológicas. La **Metodología** utilizada fue una investigación documental (se buscó, recopiló, organizó, valoró y criticó la información bibliográfica). El **Resultado** obtenido demuestra que el *Hypericum perforatum* L contiene un amplio espectro de sustancias farmacológicamente activas; las sustancias químicas de importancia para las enfermedades dermatológicas son hiperforinas y hipericíneas. Las hiperforinas tienen potentes efectos antimicrobianos, antioxidantes, antiinflamatorios y contra el cáncer, y estimulan el crecimiento y la diferenciación de los queratinocitos. También se menciona que en una investigación de siete especies vegetales del género *Hypericum* se realizó una prueba *in vitro* para determinar su actividad antimicrobiana frente a bacterias gram-positivas y gram-negativas, y se demostró que dicha actividad antimicrobiana es debido a la hiperforinas. Como **Conclusión**, el *Hypericum perforatum* tiene un potencial uso para tratamientos de enfermedades dermatológicas y tiene actividad antibacteriana frente a gram-positivo y gram-negativas. <sup>(64)</sup>

Napoli E. (2018), en el artículo “Phytochemical profiles, phototoxic and antioxidant properties of eleven *Hypericum* species - a comparative study” se planteó como **Objetivo** evaluar la actividad antioxidante, fototóxica y verificar los compuestos químicos de los extractos etanólico de 11 especies de *Hypericum* cultivadas en Sicilia. La **Metodología** para determinar la actividad antioxidante se utilizaron tres ensayos: el ensayo del receptor de Fc-Gamma (FCR), capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), para verificar los compuestos de polifenoles, acilfloroglucinoles y naftoiantiantrones se utilizó cromatografía líquida de alta resolución con detección de matriz de diodos y espectrometría de masas (HPLC-DAD-MS). Los **Resultados** obtenidos que todas las especies de

*Hypericum* estudiadas mostraron un buen nivel de actividad antioxidante, donde el extracto de *Hypericum perforatum* manifiesta como el más activo en los ensayos de Fc-Gamma y capacidad de absorbanza de radicales de oxígeno, mientras que mantuvo un buen nivel de actividad en el ensayo 2,2-difenil-1-picrilhidracilo; por otra parte, se obtuvo modesta actividad antioxidante *Hypericum aegyptium* y *Hypericum patulum*. Como **Conclusión**, las especies de *Hypericum* son una buena fuente de compuestos antioxidantes, útiles para prevenir y tratar afecciones patológicas acompañadas de estrés oxidativo. <sup>(11)</sup>

### **Antecedentes Nacionales**

Huaranca L. (2019), En la tesis para optar el grado al Título Profesional de Químico Farmacéutico “Determinación de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto ciclohexánico de *Hypericum Silenoides* Juss, frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* y *Trichophyton rubrum*, y evaluación de la toxicidad dérmica en animales de experimentación”, se planteó como **Objetivo**, determinar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto ciclohexánico de *Hypericum Silenoides* Juss frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* y *Trichophyton rubrum*, y toxicidad dérmica aguda en animales de experimentación. La **Metodología** para la evaluación de la actividad antimicrobiana se determinó la susceptibilidad por el método de Kirby –Bauer, la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante método de dilución en tubo y método de Kirby–Bauer, la concentración mínima bactericida/fungicida (CMB/CMF) por dilución en agar y la toxicidad dérmica aguda mediante el Test de Draize en conejos albinos de la especie de *Oryctolagus cuniculus*. Los **Resultados** obtenidos son los promedios de halos de inhibición para los fármacos patrones fueron: 28,27 mm para clindamicina 2 µg y 23,77 mm para Oxacilina 1µg; en comparación al extracto ciclohexanico; donde se obtuvo un promedio de halo de inhibición de 16,71 mm a una concentración máxima de 399,82 mg/10µL frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La Concentración Mínima Bactericida fue 200 mg/mL inhibiendo el 99,9% del crecimiento microbiano. Con respecto al hongo dermatofito *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 el extracto ciclohexánico de *Hypericum Silenoides* Juss no mostro actividad antimicótica y el extracto ciclohexánico no presento signos de

toxicidad dérmica (eritema y edema) a las concentraciones de 50,200; 1000 y 2000 mg/kg por lo que se aprueba las concentraciones estudiadas como no irritantes. En **Conclusión**, el extracto ciclohexánico presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mas no presenta actividad antimicótica frente a *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 y no genero toxicidad dérmica aguda. <sup>(65)</sup>

Sánchez R. (2018), en la tesis para optar grado el Académico de magister en ciencias, mención química, especialidad productos naturales, “Actividad antidepresiva y determinación por HPLC de los principales componentes del extracto ciclohexánico de las partes aéreas de *Hypericum silenoides* Juss”, el **Objetivo** de esta investigación fue comprobar la actividad antidepresiva del extracto ciclohexánico de las partes aéreas de *Hypericum silenoides* Juss en ratones albinos y determinar los componentes del extracto ciclohexánico de las partes aéreas de *Hypericum silenoides* Juss. La **Métodología** empleada consistió en la determinación de los componentes del extracto ciclohexánico de las partes aéreas de *Hypericum silenoides* Juss, mediante marcha fitoquímica, cromatografía líquida de alta performance (HPLC), y los espectros Uv-vis. El **Resultado** obtenido es que la marcha fitoquímica llegó a demostrar la presencia de abundante cantidad de azúcares reductores, buena cantidad de triterpenos, esteroides y poca cantidad de flavonoides, compuestos fenólicos y glicósidos. Por comparación de los cromatogramas HPLC y los espectros Uv-vis del extracto y el patrón correspondiente, se ha identificado el floroglucinol Uliginosina B en el extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss. Como **Conclusión**, se desprende que se tiene una mayor exactitud por HPLC y los espectros Uv-vis cuando se realiza la identificación de componentes del extracto ciclohexánico de las partes aéreas de *Hypericum silenoides* juss. <sup>(66)</sup>

Abadie R. y Medina R. (2014), En su investigación “Actividad antibacteriana de extractos vegetales sobre cepas aisladas del hardware de computadoras del Hospital César Garayar - Iquitos”, se planteó como **Objetivo** determinar la actividad antibacteriana de extractos vegetales sobre cepas aisladas del hardware de computadoras del Hospital Cesar Garayar – Iquitos. Para la **Metodología**, se utilizaron 6 extractos vegetales (*Alchornea triplinervia*, *Annona*

*muricata*, *Averrhoa carambola*, *Brunfelsia grandifolia*, *Caraipa grandifolia* y *Cedrela odorata*) donde se determinó su actividad antibacteriana frente a 19 cepas de *Staphylococcus aureus*, 10 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y 5 de *Escherichia coli*, aisladas de los teclados y mouse de las computadoras del Hospital Cesar Garayar, Iquitos mediante el método de difusión en disco. También, se determinó la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima mediante la técnica de macro dilución en caldo. Los **Resultados** expresan que ninguno de los extractos tuvo actividad frente a las cepas de *Escherichia coli*, cuatro extractos tuvieron actividad frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*; y de estos, los extractos de *Cedrela odorata* y *Alchornea triplinervia* son los que tuvieron mayor actividad frente a esta bacteria, con CIM = 15,62 y 62,5 mg/mL, respectivamente. Todos los extractos tuvieron actividad frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, y los extractos de *Cedrela odorata*, *Alchornea triplinervia* y *Caraipa grandiflora* fueron los de mayor actividad con una CIM = 3,91 mg/mL. En **Conclusión**, se puede declarar que se obtuvieron prometedores resultados de actividad antibacteriana de los extractos estudiados frente a cepas intrahospitalarias. <sup>(67)</sup>

Torres F. (2015), en su guía "Comunidades de los páramos del norte peruano y su conocimiento etnobotánica para la innovación". El **Objetivo** de esta investigación fue ampliar los conocimientos de etnobotánica y bioprospección vegetal en el norte del Perú y dar una nueva ruta de conexión entre los centros de investigación y las sociedades rurales agrarias. La **Metodología** utilizada consistió en el análisis bioquímico de especies elegidas según las sugerencias de importancia que los expertos locales asignan a la especie. Se realizó un análisis especializado de la composición de metabolitos secundarios o fitoconstituyentes de las especies de interés para la Comunidad; entre ellas tenemos a la especie vegetal *Hypericum laricifolium* de la familia *Hypericaceae*. Los **Resultados** hallados sugieren que la especie vegetal *Hypericum laricifolium* presenta compuestos fenólicos (antioxidantes, depurativos hepáticos, eupépticos), cumarinas (analgésicos, desinfectantes, antitumorales y antimicrobianos), flavonoides (antibacterianos, antioxidantes, antialérgicos, antifúngicos, antiinflamatorios, hepato protectores), saponinas (expectorantes,

diuréticos, y depurativos) y taninos (antibacterianos, cicatrizantes y expectorantes). En **Conclusión**, la especie *Hypericum laricifolium* posee actividad antibacteriana, por los fitoconstituyentes que presenta. <sup>(68)</sup>

Tamariz C, et al. (2018), en su trabajo de su investigación titulado “Antimicrobial, antioxidant and phytochemical assessment of wild medicinal plants from Cordillera Blanca (Ancash, Peru)”. El **Objetivo** de esta investigación fue determinar la actividad antimicrobiana de 28 especies vegetales, principalmente para curar enfermedades relacionadas con la infección microbiana y trastornos oxidativos del estrés, de la cordillera blanca (Áncash – Perú). Como **Métodos** utilizados, se emplearon veintiocho especies vegetales, las cuales fueron seleccionadas para probar la actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Candida albicans* mediante difusión en discos. Los **Resultados** fueron que se realizó un análisis fitoquímico que determinó que el extracto de *Hypericum laricifolium* contenían alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos y/o esteroides; en el estudio farmacológico nos muestra que el extracto de dicha especie tiene actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* (0,08 mm), *Staphylococcus aureus* (0,05 mm), *Bacillus subtilis* (0,05 mm). En **Conclusión**, este estudio evidencia que la especie vegetal *Hypericum laricifolium* presenta actividad antibacteriana. <sup>(69)</sup>

Ganoza M, et al. (2015), en su trabajo de su investigación titulado “Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de extractos de especies vegetales de cachicadán, La libertad-Perú”. El **Objetivo** fue evaluar la actividad antioxidante. La **Metodología** consistió en que se realizaron 3 extractos hidroalcohólicos y 2 extractos acuosos de 5 especies vegetales *Alonso alinearis*, *Aristeguietia discolor*, *Gaultheria glomerata Sleumer*, *Rubusrobustus Presl* y *Vallea stipularis* L. recolectadas del cerro “botica”, región La Libertad, la actividad antioxidante se determinó mediante el reactivo de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), con el cual se mide la capacidad que tienen los compuestos fenólicos de capturar los radicales libres del DPPH. Los **Resultados** detallaron que se encontraron valores de IC entre 0,10 y 500,73 mg/mL. En **Conclusión**, la especie vegetal

con mayor actividad antioxidante fue *Vallea stipularis* L. con un IC50 de 0,10 mg/mL. <sup>(70)</sup>

#### - **Importancia y justificación de la investigación**

El acné vulgar constituye un problema dermatológico frecuente en la población en diferentes etapas de la vida, y la más prevalente se da en personas adolescentes. <sup>(8)</sup> El presente trabajo de investigación permitirá proponer y difundir el uso de esta planta como una opción de agente antibacteriano natural en el tratamiento de dicha enfermedad, lo que puede servir como tratamiento alternativo para el acné vulgar a un costo accesible para la población de bajos recursos económicos. Se ha demostrado la actividad antibacteriana en muchas especies del género *Hypericum* frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermis*; por ello, es importante evaluar la capacidad antibacteriana del extracto hidroalcohólico sobre *Cutibacterium acnes*, bacteria que aún no ha sido evaluada en anteriores investigaciones. <sup>(34, 66, 69)</sup>

Por otra parte, se ha comprobado actividad antioxidante en la especie *Hypericum*, como son *Hypericum maculatum*, *Hypericum acutum*, *Hypericum hirsutum*, *Hypericum androsaemum*, *Hypericum perforatum*, *Hypericum richeri* y *Hypericum barbatum*, donde se demuestrala actividad por el método DPPH, <sup>(63)</sup> sin embargo la especie *Hypericum silenoides* Juss, objeto de estudio de la presente investigación, aún no ha sido estudiado en anteriores investigaciones.

El estudio de la especie de *Hypericum silenoides* Juss, contribuye a la identificación cualitativa de su composición fitoquímica y a determinar qué parte de la planta tiene mayor actividad antibacteriana y antioxidante, por lo que es una referencia futura para la elaboración de un producto farmacéutico de origen natural que pueda reducir los riesgos de sufrir efectos adversos o colaterales que presentan los antibióticos prescritos para el tratamiento del acné vulgar.

- **Objetivo del estudio**

Determinar la actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* y antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

- **Hipótesis de investigación**

El extracto hidroalcohólico de hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum Silenoides* Juss “Canchalagua” presenta actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* y antioxidante.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Enfoque y diseño

Experimental, analítico, descriptivo y prospectivo.

### 2.2. Población, muestra y muestreo

#### Población y Muestra

La población vegetal en estudio está constituida por la especie vegetal *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”, que está ubicada en el caserío Huasmín, provincia de Celendín, departamento de Cajamarca.

#### Tamaño de la muestra

La muestra vegetal son las hojas, flores, tallos y raíz, de vegetal *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” recolectados en el caserío Huasmín, provincia de Celendín, departamento de Cajamarca. Se recolectó 2 kg aproximadamente del especial vegetal ya mencionada anteriormente, se separaron por hoja, flor, tallo y raíz, de las cuales se obtuvieron los siguientes pesos en su proceso de desecación en la estufa.

**Tabla 1.** Tabla de pesos de hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Parte de la especie vegetal	Pesos obtenidos de 2 kg
Hoja	340 g
Flor	575 g
Tallo	520 g
Raíz	220 g

Para la determinación de la actividad antioxidante se realizará por triplicado según la literatura. <sup>(71)</sup>

Para la determinación de la actividad antibacteriana, se utilizó la siguiente ecuación para determinar el tamaño de muestra, la cual según la literatura estadística es apropiada para la comparación de promedios, en nuestro caso los diámetros promedio de halos de inhibición:

$$n = \frac{2(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 s^2}{d^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha}=1,96$  Es una constante de la distribución Normal usada para que la estimación tenga un nivel de seguridad o confianza del 95%

$Z_{\beta}=1,64$  Es una constante de la distribución Normal usada para que la potencia de la prueba sea del 90%. <sup>(72)</sup>

$S= 1,4$  mm, Es la desviación estándar máxima esperada obtenida de Meza K y Vargas G (2013). <sup>(59)</sup>

$d= 2,0$  mm es la diferencia entre tratamientos que queremos detectar.

Reemplazando tenemos:

$$n = \frac{2(1,96 + 1,64)^2 1,4^2}{2,0^2} = 10$$

Extracto hidroalcohólico *Hypericum silenoides* Juss de (hojas, flores, tallo y raíz) tendríamos un total de 40 discos, más 10 repeticiones para cada uno de los grupos patrones y control (blanco, clindamicina, doxiciclina, eritromicina y tetraciclina) lo cual significa 210 discos en total.

### **Criterios de inclusión**

- Material vegetal perteneciente al caserío Huasmín, provincia de Celendín, departamento de Cajamarca.
- Hojas, flores, tallo y raíz sin presencia de partículas macroscópicas extrañas.

- Especie *Hypericum silenoides* Juss en buen estado de conservación.
- La especie vegetal perteneciente a la familia *Hypericaceae*, género *Hypericum* L, especie *Hypericum silenoides* Juss.

### **Criterios de exclusión**

- Hojas, flores, tallo y raíz con presencia de partículas macroscópicas extrañas.
- Especie *Hypericum silenoides* Juss en mal estado de conservación.
- Especie vegetal no perteneciente a la familia *Hypericaceae*, género *Hypericum* L, especie *Hypericum silenoides* Juss.

### **2.3. Variable de estudio**

#### **- Variable independiente**

Extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”

#### **- Variable dependiente**

Actividad Antibacteriana

Actividad Antioxidante

### **2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

Para anular los efectos de variación que alguno de los experimentadores pudiese tener, la preparación de los medios, medición de los halos de inhibición y disoluciones, se realizaron por ambos investigadores, el orden se realizó aleatoriamente. Conforme se obtuvieron los resultados de las mediciones de los diámetros de los halos de inhibición y la lectura de las absorbancias realizadas en el laboratorio serán ingresadas al instrumento de recolección de datos. **(Ver anexo I, anexo J): Pag. 106 y 108**

## **2.5. Proceso de recolección de datos**

### **2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de daos.**

Para la etapa experimental para determinar la actividad antibacteriana y antioxidante, se coordinó con el área de laboratorio y material didáctico para el uso del laboratorio multifuncional y de microbiología en la Universidad Nobert Wiener.

### **2.5.2. Aplicación de instrumento de recolección de datos.**

La recolección de datos se realizó culminada la parte experimental. Para determinar la actividad antibacteriana se midieron 210 diámetros de los halos de los grupos control positivo, control negativo y los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz; para determinar la actividad antioxidante se midió la absorbancia por triplicado.

Las informaciones contenidas serán debidamente codificadas y registradas en una hoja de cálculo de Excel versión 2016, luego de revisar la consistencia de los datos se procederá a generar un fichero en el software estadístico SPSS versión 24,0.

## **Materiales, Equipos, Solventes y Reactivos utilizados**

### **- Material biológico**

Especie vegetal *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Sangre de Carnero, estéril.

### **- Material microbiológico**

Cepa liofilizada de *Cutibacterium acnes* ATCC® 6919™ de la marca Microbiologics® con número de lote 170-21.

Escala de Mac Farland.

### **- Material farmacológico**

Discos de clindamicina 10 µg (Liofilchem).

Discos de doxiciclina 30 µg (Liofilchem).  
Discos de eritromicina 15 µg (Liofilchem).  
Discos de tetraciclina 30 µg (Liofilchem).  
Hemina 0,5%.  
Fitomenadiona (Vitamina K).

- **Solventes, reactivos y otros.**

Agua destilada.  
Etanol 96° Comfarma.  
Metanol J.T. Baker™.  
n - butanol Q.P. Merck.  
Cloroformo Q.P. Merck.  
Acetato de etilo Q.P. Merck.  
Ácido clorhídrico Q.P. Merck.  
Ácido sulfúrico Q.P. Merck.  
Tricloruro de aluminio 1%.  
Shinoda: Granalla de Mg + HCl Q.P.  
Reactivo de Dragendorff.  
Reactivo de Mayer.  
Reactivo de Popoff.  
Reactivo de Wagner.  
Reactivo de Fehling A y B.  
Reactivo de Molish.  
Reactivo de Ninhidrina.  
Reactivo de Popoff.  
Magnesio metálico.  
Hidróxido de sodio 10%.  
Gelatina al 1% - NaCl al 5%.  
Tricloruro de hierro.  
Reactivo de Kedde.  
Reactivo de Baljet.  
Trolox Calbiochen®.

2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) Calbiochen®.

- **Insumos**

Agar Brucella 500 g OXOID.

Anaerogen 2,5 L (sobres generadores de gas anaeróbico) ThermoScientific™.

- **Materiales de laboratorio**

Goteros de plástico descartables.

Jarra de anaerobiosis Difco ®.

Micropipeta de 1mL Boeco ®.

Placas Petri descartables Boeco ®.

Papel filtro Whatman N°3 ®.

Papel Kraft.

Beacker de vidrio 1000, 500, 100 y 50 mL Pyrex.

Pipeta de vidrio 1, 2, 5, 10 mL Pyrex.

Bagueta de vidrio.

Frasco de vidrio color ambar 20 mL, 200 mL y 2 L.

Tubos de ensayo 13x100 mL de Pyrex.

Frascos rosca ISO-GL-45 500 mL y 1L DURAN.

Embudos de vidrio Pyrex.

Bandeja de vidrio Pyrex.

Probeta 250 mL, 500 mL y 1 L Pyrex.

Espátula de metal.

Gradilla de metal.

Vernier Stanley.

Soporte Universal de metal.

Pinza para soporte universal.

Pinzas de madera.

Pinzas de metal.

Cubetas de cuarzo Thermoelectron.

Fiolas de 10, 100 mL Pyrex.

- **Equipos**

VortexClassic, VELP®.

Incubadora Memmert.

Autoclave (esterilizadora, serie C80438).

Refrigeradora LG®.

Campana extractor, (modelo: CL-1000).

Lámpara UV (modelo 43005M/MH).

Espectrofotómetro Thermo scientific®.

Balanza analítica 210 g x 0,0001 g Pioner PA214 Ohaus.

Estufa UE-400 Memmert.

- **Materiales Biomédicos**

Algodón 100 g Cópbon®.

Guantes descartables XS RUBRERCARE®.

Mascarillas nasales descartables GOLDEN MEDIC ®.

Gorros descartables GOLDEN MEDIC ®.

Gasas BENDI-C ®.

**Metodología**

**Preparación del extracto hidroalcohólico de hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.**

Se recolecto 2 kg aproximadamente de la especial vegetal *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”, en el mes de junio, en el caserío Huasmín, provincia de Celendín, departamento de Cajamarca **(Ver anexo A): Pag. 98**  
La muestra fue llevada al Herbario del Departamento De Biología de la Universidad Nacional Agraria la Molina para su determinación taxonómica de dicha especie vegetal. **(Ver anexo B): Pag. 99**

Después de la recolección, se seleccionó el material vegetal que se encontraban en buen estado de conservación también se separó por hojas, flores, tallo y raíz, se lavó, limpió para poder eliminar cualquier impureza y se dejó secar a temperatura ambiente por 24 horas. Después de haber

transcurrido el tiempo, las hojas, flores, tallo y raíz se envolvieron con papel kraft respectivamente, para su traslado al Centro de Investigación Farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener; donde se secó en la estufa a 40 °C.<sup>(73)</sup>

**(Ver anexo C): Pag. 100**

Se trituro la especie vegetal (hojas, flores, tallo y raíz) hasta reducirlo dejarlo en pequeños trozos, luego se pesó cada una de las muestras respetivamente, se colocaron en frascos de vidrio ámbar cada una de las muestras respectivamente, se dejó macerar con etanol 70 ° durante 7 días. Al culminar el tiempo de maceración, se procedió a realizar la filtración, se llevaron a la estufa a una temperatura de 40 °C, para la desecación del extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz donde se obtuvo el extracto seco, se conservaron en frascos de vidrio ámbar. <sup>(73)</sup>

**Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.**

En una gradilla con tubos de ensayo se agregó 20 mg de extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz en cada tubo respectivamente rotulado, se añadió 1 mL de los solventes en cada tubo de ensayo respectivamente; se agito. <sup>(74)</sup>

- Agua destilada
- Metanol J.T. Baker™
- Etanol Q.P. Merck.
- n-butanol Q.P. Merck.
- Acetato de etilo Q.P. Merck.
- Cloroformo Q.P. Merck.

**Análisis cualitativo de los extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.**

El análisis cualitativo se realizó para identificar los metabolitos secundarios de la especie vegetal <sup>(75, 76)</sup> mediante reacciones de coloración y formación de precipitados.

En un tubo de ensayo se disolvió 100 mg de extracto hidroalcohólico seco de hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” se añadió 12 mL de etanol en cada tubo de ensayo respectivamente, formándose soluciones etanólicas para realizar las siguientes pruebas:

### **Carbohidratos**

- **Reacción de Molish:** En 1 tubo de ensayo se añadió 1 mL de la solución etanólica, se adicionó 11 gotas de solución alcohólica  $\alpha$ -naftol y por las paredes del tubo de ensayo se vertió 11 gotas de ácido sulfúrico químicamente puro. La reacción es positiva cuando se forma un anillo para carbohidratos (Azúcares) <sup>(75)</sup>
- **Reacción de fehling A y B:** En 1 tubo de ensayo se añadió con 1 mL de la solución etanólica y luego se añadió 1 mL del reactivo de Fehling A y B respectivamente, posteriormente se llevó a Baño María por 5 minutos. La reacción es positiva cuando hay un precipitado rojo ladrillo para carbohidratos (Azúcares reductores) <sup>(75)</sup>

### **Aminoácidos**

- **Reacción de Ninhidrina:** En 1 tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se adiciono 11 gotas del reactivo Ninhidrina y se llevó a Baño María por 5 minutos. La reacción es positiva cuando hay un cambio de coloración marrón o violáceo para grupo amino libre. <sup>(76)</sup>

### **Flavonoides**

- **Reacción de Shinoda:** En 1 tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se adiciono virutas de magnesio metálico y 11 gotas de ácido clorhídrico químicamente puro. La reacción es positiva cuando hay cambio coloraciones, amarillo rojizo para flavonas y flavonoles, rojo a magenta para flavanonoles, rojo, azul, violeta para flavononas, amarillo para isoflavonas, no hay coloración para isoflavononas, chalconas y auronas. <sup>(75)</sup>

- **Reacción de tricloruro de aluminio (AlCl<sub>3</sub>):** En 1 tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se agregó 11 gotas de Tricloruro de Aluminio y se llevó a la lámpara ultra violeta. La reacción es positiva cuando se observa un halo de color amarillo para flavonoides. <sup>(75)</sup>

### **Esteroides y/o triterpenos**

- **Reacción de Liebermann - Burchard:** En un tubo de ensayo se disolvió 20 mg del extracto hidroalcohólico seco en 1 mL de cloroformo, se agregó 1 mL de anhídrido acético y 11 gota de ácido sulfúrico químicamente puro. La reacción es positiva cuando hay cambio de coloración azul-verde para saponina esteroidal, rojo-naranja para saponina triterpenoides. <sup>(75)</sup>

### **Lactonas sesquiterpénicas**

- **Reacción de Baljet:** En 1 tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se agregó 1 mL del reactivo Baljet (Acido Pícrico) y 1 mL de NaOH al 10%. La reacción es positiva cuando hay un cambio de coloración anaranjado o rojo para lactonas sesquiterpénicas. <sup>(75)</sup>
- **Reacción de kedde:** En 1 tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se agregó 0,5 mL del reactivo Kedde. La reacción es positiva cuando hay un cambio de coloración violeta azul para lactonas insaturadas. <sup>(76)</sup>

### **Cumarinas**

- **Reacción con hidróxido de sodio al 10%:** En 1 tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se tapado con papel filtro impregnado con 1 gota de NaOH al 10%, se llevó a calentar por 4 minutos y se llevó el papel filtro a la lámpara ultravioleta. La reacción es positiva cuando hay fluorescencia de color amarillo para cumarinas. <sup>(76)</sup>

## Compuestos fenólicos

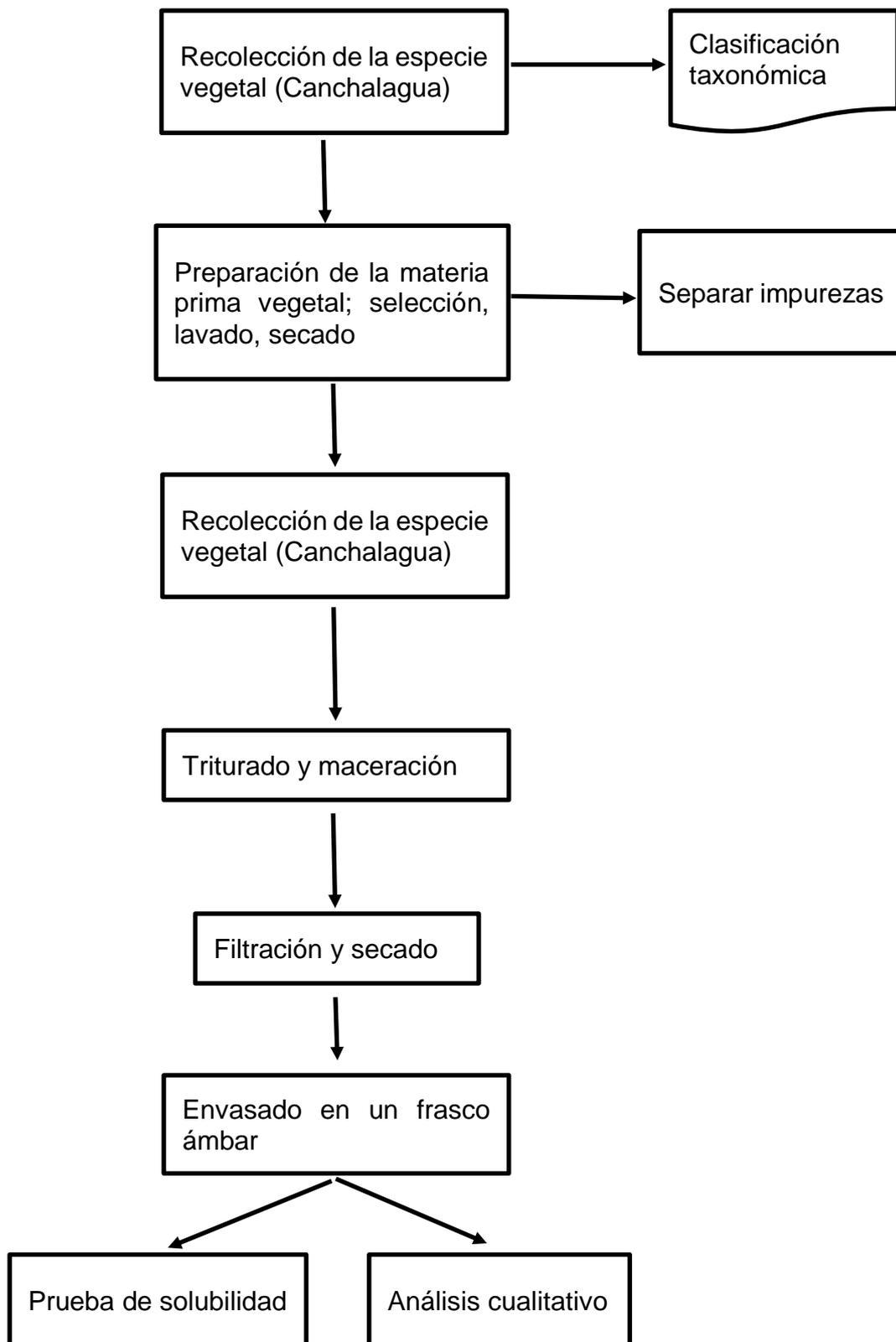
- **Reacción de Tricloruro de hierro:** En 1 tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se adiciono II gotas tricloruro de hierro. La reacción es positiva cuando hay cambio coloraciones, verde azulado para fenoles. <sup>(76)</sup>

## Taninos

- **Reacción de Gelatina:** En 1 tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se adiciono III gotas de solución de gelatina. La reacción es positiva cuando hay un precipitado blanco para taninos. <sup>(76)</sup>

## Alcaloides

- **Dragendorff:** En un tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se agregó II gota del reactivo de Dragendorff. La reacción es positiva cuando hay formación de precipitado naranja. <sup>(75)</sup>
- **Popoff:** En un tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se agregó II gota del reactivo de Popoff. La reacción es positiva cuando hay formación de precipitado amarillo. <sup>(76)</sup>
- **Mayer:** En un tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se agregó II gota del reactivo de Mayer. La reacción es positiva cuando hay formación de precipitado crema o blanco. <sup>(75)</sup>
- **Wagner:** En un tubo de ensayo con 1 mL de la solución etanólica se agregó II gota del reactivo de Wagner. La reacción es positiva cuando hay formación de precipitado marrón. <sup>(75)</sup>



**Figura 4.** Obtención de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

## Estudio de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó por el método de radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). Se disolvió 2 mg de DPPH en 100 mL de metanol, se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente protegiendo de la luz, después se prepararon diluciones a diferentes concentraciones en la cual la absorbancia fue de  $0,700 \pm 0,050$  a la longitud de onda de 517 nm, lo que se tomó en cuenta para las reacciones posteriores. <sup>(14,71)</sup>

En la determinación de la curva de referencia se disolvió 2,5 mg de Trolox (control) en 10 mL metanol (250 µg/mL), se realizaron diferentes diluciones a las siguientes concentraciones 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,81 µg/mL, se adiciono 1900 µL de la solución DPPH, agregando 100 µL de las diluciones anteriormente realizadas de Trolox, se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente protegiendo de la luz, posteriormente se llevó al espectrofotómetro UV-Visible (longitud de onda de 517 nm), realizándose por triplicado. <sup>(71, 77)</sup>

La preparación de la muestra, se disolvió 10 mg de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, raíz, y tallo del *Hypericum silenoides* Juss en 10 mL metanol (100 µg/mL), después se realizó diferentes diluciones, a las siguientes concentraciones 50; 12,5; 6,25; 3,125 µg/mL.

En la determinación de la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Hypericum silenoides* Juss, se adiciono 1900 µL de la solución DPPH, agregando 100 µL de las diluciones realizadas de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss, se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente protegiendo de la luz, posteriormente se llevó al espectrofotómetro UV-Visible (longitud de onda de 517 nm), estas lecturas se realizaron por triplicado. La actividad antioxidante se determinó como porcentaje de inhibición (% I), lo que indica la cantidad de radicales de DPPH neutralizado

por el extracto o patrón, con base a la siguiente ecuación: (70, 77)  
**(ver anexo H): Pag. 105**

$$\%I = \frac{A1 - A2}{A1} \times 100$$

Donde:

A1: Absorbancia del reactivo DPPH

A2: Absorbancia de la muestra (extracto hidroalcohólico con DPPH).

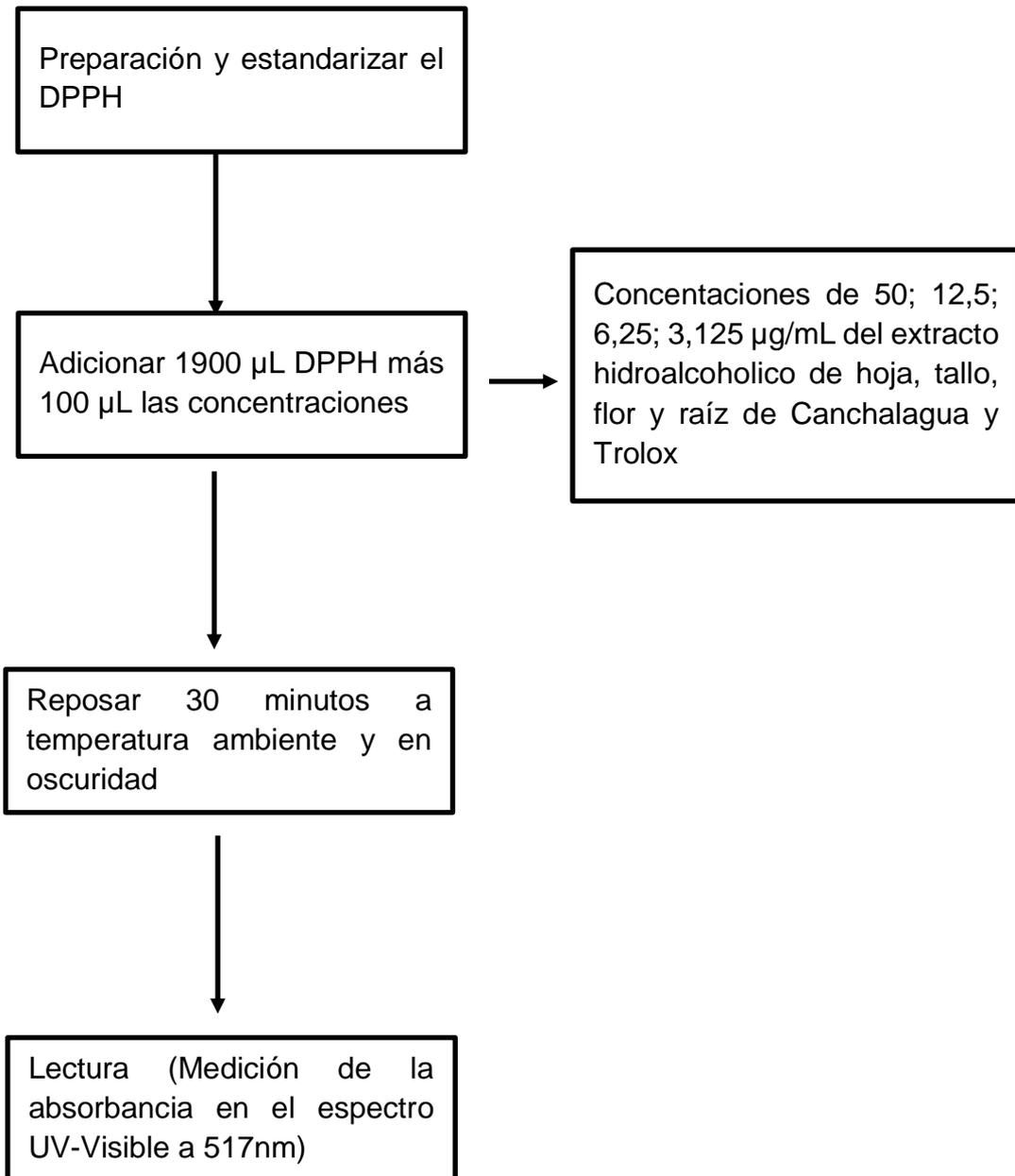
Finalmente, con los resultados obtenidos de porcentaje de captación de DPPH se determina el coeficiente de Inhibición media (IC50), con la siguiente ecuación.

$$IC50 = \frac{50 - A}{B}$$

Donde:

A: Interceptor de la recta

B: Valor absoluto de la pendiente de la recta



**Figura 5.** Procedimiento experimental de la actividad antioxidante de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

### 2.5.3. Estudio microbiológico

#### **Preparación del inóculo bacteriano**

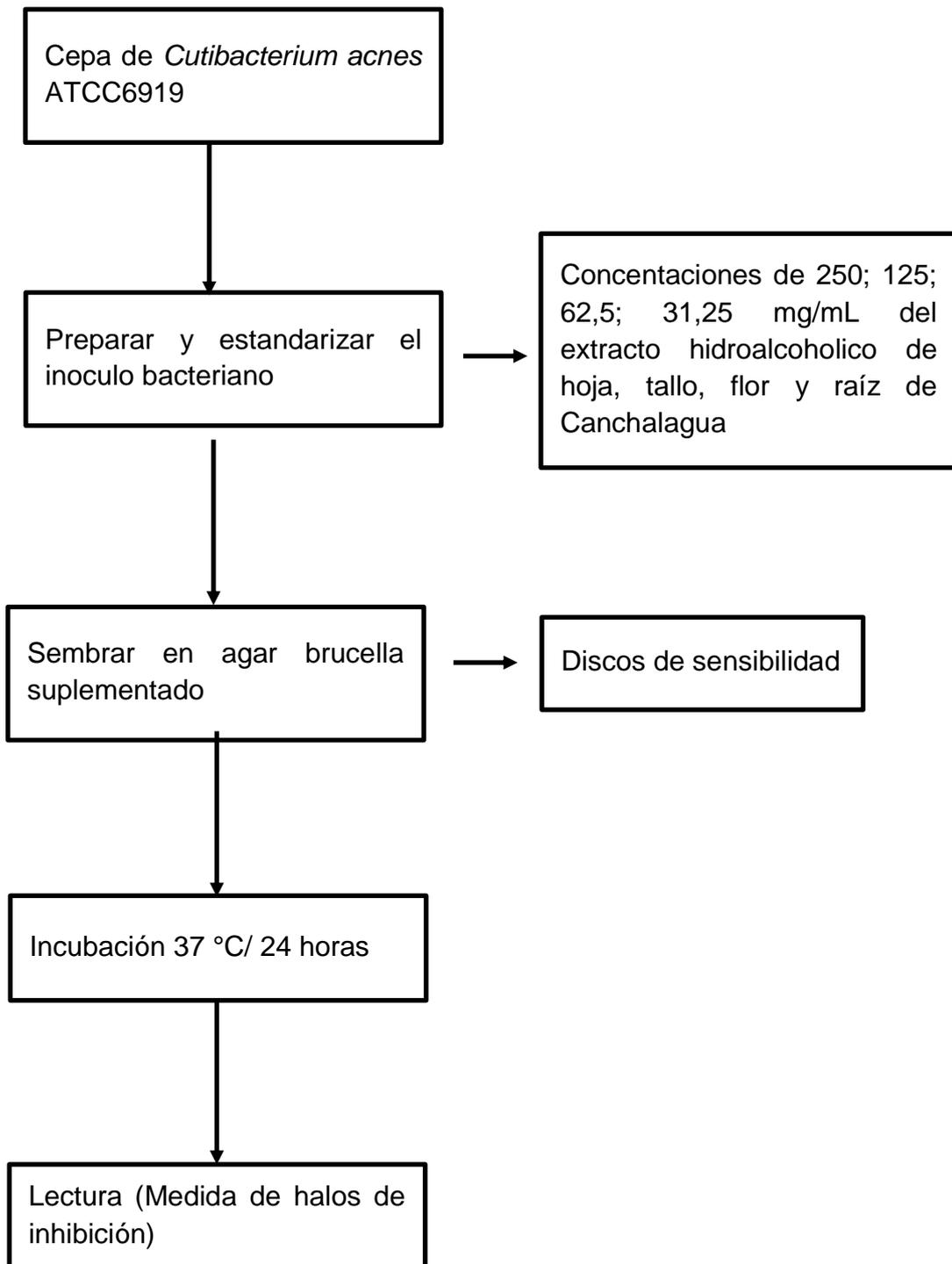
Se activó la cepa *Cutibacterium acnes* ATCC 6919 según protocolo (**Ver anexo D): Pag. 101**, después, con un asa de siembra se tomaron las colonias características de la cepa y se suspendió en solución salina hasta ajustar la concentración a 0,5 de Mcfarland ( $1,5 \times 10^8$  bacterias/mL) de tal manera que se trabajó con una concentración estándar para todos los ensayos. <sup>(78)</sup>

#### **Preparación de los discos de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss**

Se obtuvieron discos de 3 mm de diámetro en papel watman N° 3, estos discos se esterilizaron en la autoclave dentro de unos tubos de ensayo y luego se secaron en estufa a 60°C por una hora, se colocaron en placas petri estériles, donde fueron impregnados con 10 µL de los extractos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss a concentraciones de 250; 125; 62,5; 31,25 mg/mL. <sup>(79)</sup>

#### **Prueba de susceptibilidad bacteriana**

Se preparó el agar brucella con la hemina, la vitamina K1 y sangre de carnero para luego realizar un estriado uniformemente del inóculo de *Cutibacterium acnes* en la placa; finalmente se colocaron los discos de antibióticos como control positivo (clindamicina 10 µg, doxiciclina 30 µg, eritromicina 15 µg y tetraciclina 30 µg), los discos de control negativo (agua destilada) y los discos con los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz impregnados con 10 µL en papel filtro whatman N° 3 respectivamente, se incubó por 2 días a temperatura ambiente en una jarra de anaerobiosis adicionándole a dicha jarra una bolsa de Anaerogen (generadores de gas anaeróbico). <sup>(15, 78, 79)</sup> (**Ver anexo E): Pag. 102**



**Figura 6.** Procedimiento experimental de la actividad antibacteriana de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

## **2.6. Método de análisis estadístico**

Mediante el SPSS se obtuvieron las estadísticas descriptivas principales del efecto antibacteriano mediante la medición de los halos de inhibición (media, desviación estándar y valores extremos), también se construyeron gráficos de cajas que evidenciaron no homogeneidad de varianzas, las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk indicaron que no existía normalidad en los grupos. Debido a esto para evaluar la actividad antibacteriana se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis y para determinar las concentraciones de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz con mayor efecto antibacteriano, se usaron las comparaciones múltiples Games-Howell. En el caso de la actividad antioxidante se utilizó regresión lineal simple para determinar el IC50, además se calculó el coeficiente de determinación R<sup>2</sup> para validar el ajuste del modelo.

Las figuras fueron realizadas con ayuda de Excel y SPSS todo se editó con ayuda del Word Office 2016.

## **2.7. Aspectos bioéticos**

El presente estudio se llevó a cabo siguiendo el reglamento de Código de Ética para la Investigación de la Universidad Privada Norbert Winer (UPNW).

Los investigadores deben responder a las reglas de protección de los derechos, cuidado al medio ambiente y el bienestar de las personas y todo ser vivo que participan en la investigación.

Los investigadores siguen el proceso de responsabilidad, rigurosidad científica, honestidad y transparencia. Además de respetar los derechos de autor citando las fuentes y referencias. <sup>(80)</sup>

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Prueba de solubilidad

**Tabla 2.** Prueba de solubilidad de extractos hidroalcohólicos secos de hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Solventes	Solubilidad de los extractos hidroalcohólicos secos			
	Hojas	Flores	Tallo	Raíz
Agua destilada	+	+	+	+
Metanol	+	+	+	+
Etanol	+	+	+	+
n-butanol	+	+	+	+
Acetato de etilo	-	-	-	-
Cloroformo	-	-	-	-

**Leyenda:** (-) insoluble, (+) soluble

En la tabla 2, se observa que el extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” es soluble en agua destilada, metanol, etanol, n-butanol; e insoluble en acetato de etilo y cloroformo.

### 3.2. Análisis cualitativo de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

**Tabla 3.** Análisis cualitativo de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Metabolitos	Reactivos	Resultados			
		Hojas	Flores	Tallo	Raíz
Carbohidrato	Molish	+	+	+	+
Azúcares Reductores	Fehling A y B	+	+	+	+
Grupo Aminos Libres	Ninhidrina	+	+	+	+
Flavonoides	Shinoda	+	+	+	+
	Tricloruro de Aluminio	+	+	+	+
Esteroides y/o triterpenos	Liebermann Burchard	+	+	+	+
Lactonas	Baljet	+	+	+	+
Sesquiterpénicas	Kedde	-	-	-	-
Cumarinas	Hidróxido de Sodio al 10%	+	+	+	+
Compuestos Fenólicos	Tricloruro de Hierro	+	+	+	+
Taninos	Gelatina / NaCl	+	+	+	+
Alcaloides	Popoff	-	-	-	-
	Mayer	-	-	-	-
	Wagner	-	-	-	-
	Dragendorff	-	-	-	-

**Leyenda:** Presencia (+), Ausencia (-)

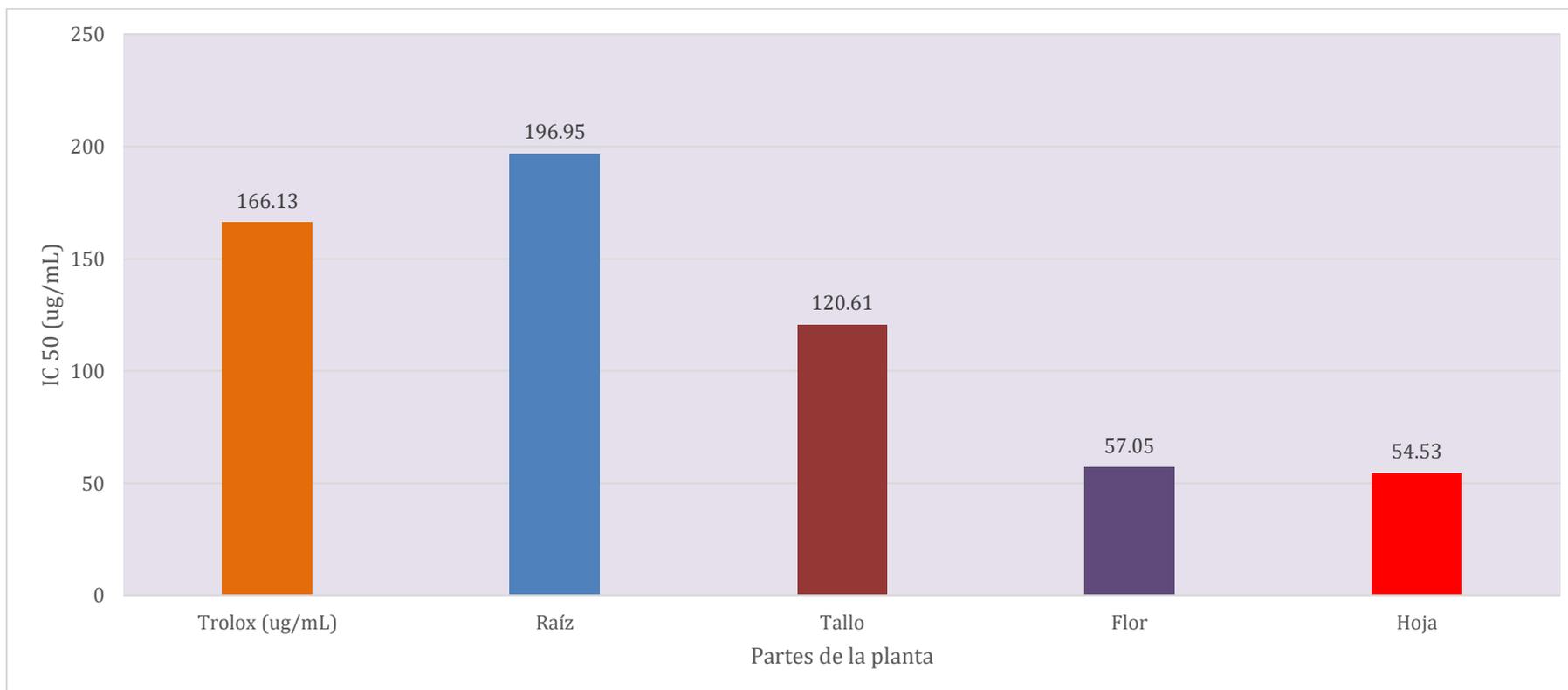
En la Tabla 3, se observa que los extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”, presentan los siguientes metabolitos: Carbohidrato, azúcares reductores, grupos aminos libres, flavonoides, esteroides y/o terpenos, lactonas sesquiterpénicas, cumarinas, compuestos fenólicos, taninos; pero se observa la ausencia de alcaloides.

### 3.3. Actividad antioxidante

**Tabla 4.** Actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

	Concentraciones (µg/mL)	Absorbancia			Absorbancia Real (promedio)	% Inhibición	IC 50 (µg/mL)
Trolox	250	0,172	0,172	0,201	0,182	74,52	166,13
	125	0,463	0,446	0,427	0,445	37,54	
	62,5	0,586	0,575	0,563	0,575	19,40	
	31,25	0,655	0,621	0,613	0,630	11,69	
	15,625	0,68	0,654	0,65	0,661	7,25	
	7,8125	0,7	0,66	0,678	0,713		
Raíz	100	0,528	0,539	0,504	0,524	26,55	196,95
	50	0,611	0,603	0,589	0,601	15,71	
	25	0,631	0,629	0,634	0,631	11,45	
	12,5	0,663	0,666	0,664	0,664	6,83	
	6,25	0,687	0,688	0,701	0,692	2,95	
Tallo	100	0,425	0,422	0,427	0,425	40,44	120,61
	50	0,537	0,529	0,511	0,526	26,27	
	25	0,536	0,531	0,507	0,525	26,41	
	12,5	0,698	0,691	0,691	0,693	2,76	
	6,25	0,67	0,669	0,627	0,655	8,09	
Flores	100	0,178	0,175	0,167	0,173	75,69	57,05
	50	0,313	0,335	0,347	0,332	53,48	
	25	0,543	0,535	0,535	0,538	24,59	
	12,5	0,564	0,555	0,569	0,563	21,08	
	6,25	0,625	0,620	0,6	0,615	13,74	
Hojas	100	0,133	0,149	0,14	0,141	80,27	54,53
	50	0,326	0,337	0,355	0,339	52,41	
	25	0,488	0,52	0,453	0,487	31,70	
	12,5	0,609	0,622	0,632	0,621	12,90	
	6,25	0,628	0,590	0,596	0,605	15,19	
Blanco	---	---	---	---	0,713	---	---

La Tabla 4 muestra las absorbancias obtenidas de los extractos hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss y del grupo patrón Trolox a diferentes concentraciones; mostrando los valores del IC50 en la última columna. Obtenidos mediante regresión lineal.



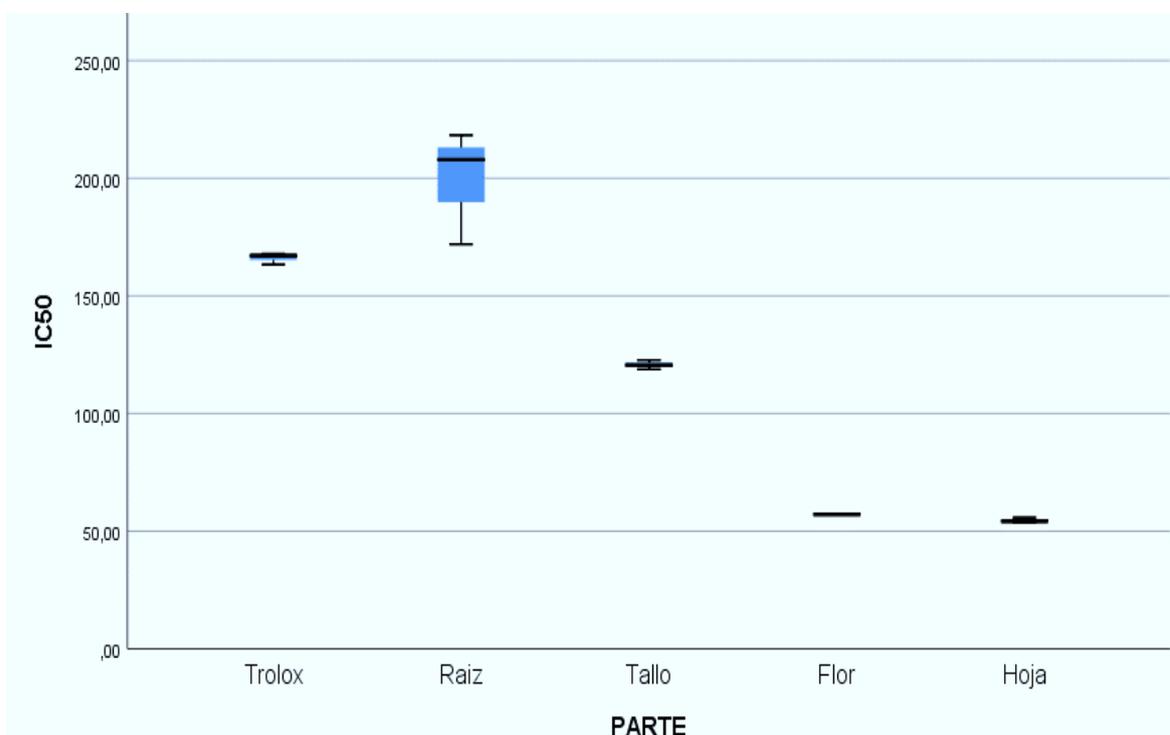
**Figura 7.** Valor IC<sub>50</sub> de la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” y Trolox.

La figura 7 nos indica en primer lugar que el extracto hidroalcohólico de la hoja de *Hypericum silenoides* Juss presenta mayor actividad antioxidante con un IC<sub>50</sub> de 54,53 µg/mL seguido de la Flor con un IC 50 de 57,05 µg/mL.

**Tabla 5.** Prueba de homogeneidad de varianzas del IC50 de Trolox y los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	p valor
IC50	9,803	4	10	0,002

La tabla 5 nos muestra que el p valor de la prueba resulta ser menor a 0,05 (p valor = 0,002) esto indica que las variabilidades de los de IC50 de trolox y los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss no son homogéneos entre ellos, por tanto, no se pueden comparar mediante un ANOVA, en su lugar usaremos la prueba de Kruskal Wallis.



**Figura 8.** Distribución del Valor IC 50 del Trolox y los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Al analizar el diagrama de cajas de la figura 8 podemos observar que el valor del IC50 del extracto hidroalcohólico de la raíz presenta mayor dispersión que

los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores y tallo (mayor amplitud de la caja), a su vez que los valores son también mayores al resto. En cuanto al extracto hidroalcohólico de las flores podemos observar que la caja es más estrecha lo cual indica una menor dispersión. Esta figura confirma los resultados obtenidos en la prueba de homogeneidad de varianzas del IC50.

**Tabla 6.** Prueba de Kruskal Wallis para las distribuciones de IC50 del Trolox y los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

H de Kruskal-Wallis	13,500
gl	4
Sig. asintótica	0,009

La tabla 6 muestra que la prueba resulta ser significativa, con lo cual se puede afirmar que los valores del IC50 son estadísticamente diferentes entre los diferentes extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”, para establecer el orden o jerarquía de manera significativa usaremos las comparaciones múltiples de Games Howell que no requieren de homogeneidad de varianzas

**Tabla 7.** Prueba de comparaciones múltiples Games-Howell para las distribuciones de IC50 del Trolox y los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

(I) Parte	(J) Parte	Diferencia de medias (I-J)	Sig.
<b>Trolox</b>	Raíz	-33,22191	0,383
	Tallo	45,44188*	0,000
	Flor	109,06179*	0,001
	Hoja	111,57458*	0,000
<b>Raíz</b>	Tallo	78,66379	0,090
	Flor	142,28370*	0,029
	Hoja	144,79649*	0,028
<b>Tallo</b>	Flor	63,61991*	0,001
	Hoja	66,13270*	0,000
<b>Flor</b>	Hoja	2,51279	0,167

En la tabla 7 En primer lugar, Cuando comparamos el IC50 de Trolox con los extractos hidroalcoholicos las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss solo observamos diferencias positivas y significativas (p valor < 0,05) con respecto a los extractos hidroalcohólicos de tallo, flor y hoja lo cual indica que el IC50 del trolox presenta un valor mayor al IC50 de los extractos hidroalcoholicos del tallo, flor y hoja por lo cual tiene una mayor actividad antioxidante..

En segundo lugar, cuando comparamos el extracto hidroalcohólico raíz versus los extractos hidroalcohólicos del tallo, flor y hoja nos indica que el IC50 de este es comparable al extracto hidroalcohólico del tallo, mientras que los extractos hidroalcohólicos de las flores y las hojas presentan un IC50 estadísticamente diferente (p valor <0,05).

En tercer lugar, al comparar el extracto hidroalcohólico del tallo versus al extracto hidroalcohólico de la flor y hoja, las diferencias observadas resultan ser significativas (p valor < 0,05) por lo cual podemos concluir que el IC50 del extracto hidroalcohólico de la flor y hoja es superior al extracto hidroalcohólico del tallo.

Finalmente, la 4 prueba nos indica que no existen evidencias estadísticas de una diferencia entre el IC50 de los extractos hidroalcohólicos de la flor y hoja (p valor = 0,167) por tanto podemos concluir que la actividad de los 2 extractos hidroalcohólicos son muy similares.

### 3.4. Estudio Microbiológico

#### 3.4.1. Prueba de sensibilidad antibiótica frente al *Cutibacterium acnes* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum silenoides* Juss

**Tabla 8.** Estadísticas descriptivas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

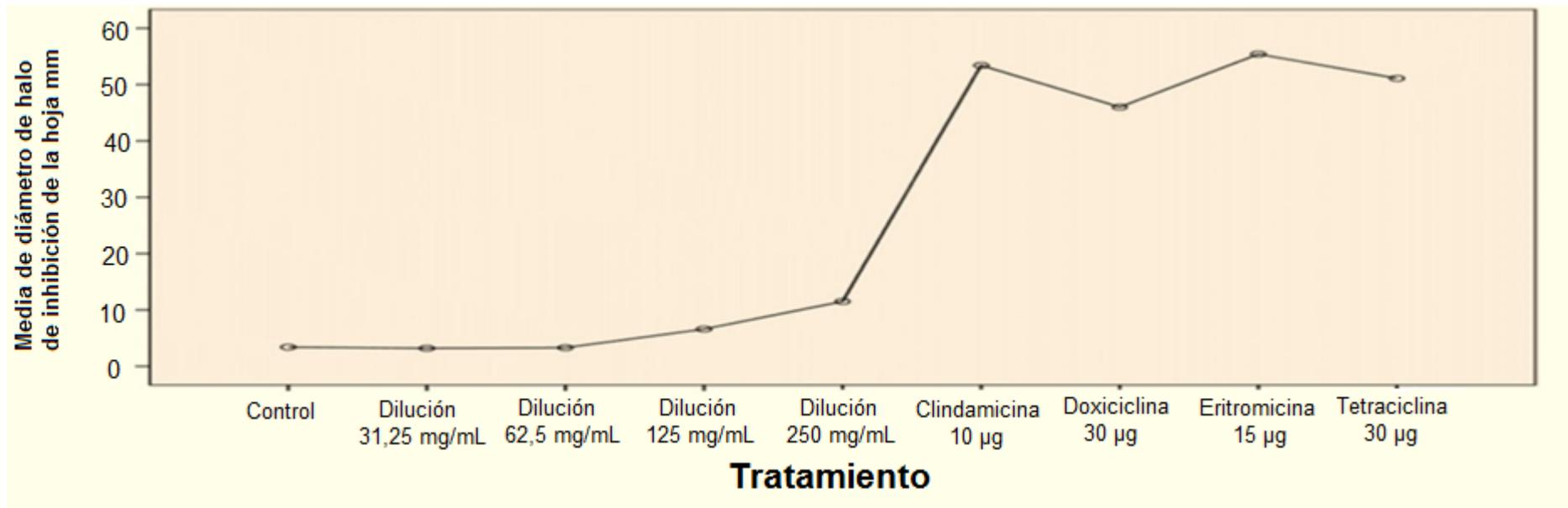
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Control	10	3,40	0,52	3	4
Dilución 31,25 mg/mL	10	3,20	0,63	3	5
Dilución 62,5 mg/mL	10	3,30	0,95	3	6
Dilución 125 mg/mL	10	6,60	1,71	3	9
Dilución 250 mg/mL	10	11,50	0,71	10	12
Clindamicina	10	53,40	1,07	52	55
Doxiciclina	10	46,00	1,76	44	48
Eritromicina	10	55,40	2,27	52	58
Tetraciclina	10	51,10	0,88	50	52

La Tabla 8 muestra indicadores estadísticos descriptivos del estudio al que se sometió el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum silenoides* Juss en diferentes diluciones para comprobar su acción antibacteriana frente al *Cutibacterium acnes*, tomando como indicador el diámetro del halo de inhibición que este formó.

La tabla en mención muestra, en primer lugar, el efecto de un grupo control negativo (Agua Destilada). En las diez pruebas que se realizaron, el diámetro tuvo un valor promedio de 3,4 mm, lo cual demuestra la inactividad antibacteriana del agua destilada; y una desviación estándar de 0,52; lo cual refiere una gran homogeneidad entre los valores obtenidos.

En segundo lugar, se muestran los valores del estudio realizado con los extractos hidroalcohólicos de las hojas en diferentes diluciones. En la dilución de 250 mg/mL, se registró un diámetro promedio de 11,50 mm, el cual es muy superior al formado por el del control negativo. Cuando este extracto se diluyó a la mitad (125 mg/mL), el diámetro promedio decreció a 6,60 mm (reducción del 42,7%); cuando se diluyó a la cuarta parte (62,5 mg/mL), decreció a 3,30 mm (reducción del 71,30%); y cuando se redujo a la octava parte (31,25 mg/mL), decreció a 3,20 mm (reducción del 72,17%). De las dos últimas mediciones, se observan dos aspectos importantes: en primer lugar, las diluciones de 62,5 y 31,25mg/mL presentan halos de tamaño muy similar; en segundo lugar, estos diámetros son, a su vez, muy similares a los del grupo control negativo, lo cual quiere decir que a partir de una dilución del 62,5mg/mL e inferiores, este extracto no presenta ninguna acción antibacteriana.

Por último, se emplearon cuatro antibióticos en discos como grupo control positivo, y se observó que los halos de inhibición que estos formaban oscilaban entre 44 y 58 mm, donde el de mejor acción fue la Eritromicina: el halo que este formó llegó a ser de un diámetro unas 5 veces mayor que la del extracto hidroalcohólico de la hoja empleada en su mayor dilución (250 mg/mL).



**Figura 9.** Gráfica de medias del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

La Figura 9 muestra el valor promedio de los diámetros de los halos de inhibición; en esta, se nota que, a medida que aumenta la concentración, aumenta también el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum silenoides* Juss. Se resalta que la pendiente se hace más pronunciada entre la dilución de 125 a 250 mg/mL con respecto a los grupos control negativo. El salto del control negativo a la dilución de 31,25 mg/mL es imperceptible; mientras que el salto de la dilución de 250 mg/mL al grupo control positivo es de gran magnitud. Este comportamiento expresado en la gráfica no hace más que comprobar que las diluciones de 31,25 y 62,5 mg/mL no son lo suficientemente efectivas en cuanto a su acción antibacteriana, ya que la pendiente que existe entre estos tres elementos es casi imperceptible; también muestra que una dilución como la de 250 mg/mL todavía no llega a igualar el efecto antibacteriano de la clindamicina, doxiciolina, eritromicina y tetraciclina.

**Tabla 9.** Pruebas de normalidad del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	p valor	Estadístico	gl	p valor	
Diámetro de halo de inhibición mm de la hoja	Dilución 31,25 mg/mL	0,524	10	0,000	0,366	10	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	0,524	10	0,000	0,366	10	0,000
	Dilución 125 mg/mL	0,263	10	0,048	0,863	10	0,084
	Dilución 250 mg/mL	0,360	10	0,001	0,731	10	0,002
	Clindamicina	0,245	10	0,090	0,892	10	0,177
	Doxiciclina	0,315	10	0,006	0,763	10	0,005
	Eritromicina	0,174	10	0,200*	0,893	10	0,182
	Tetraciclina	0,248	10	0,082	0,805	10	0,017

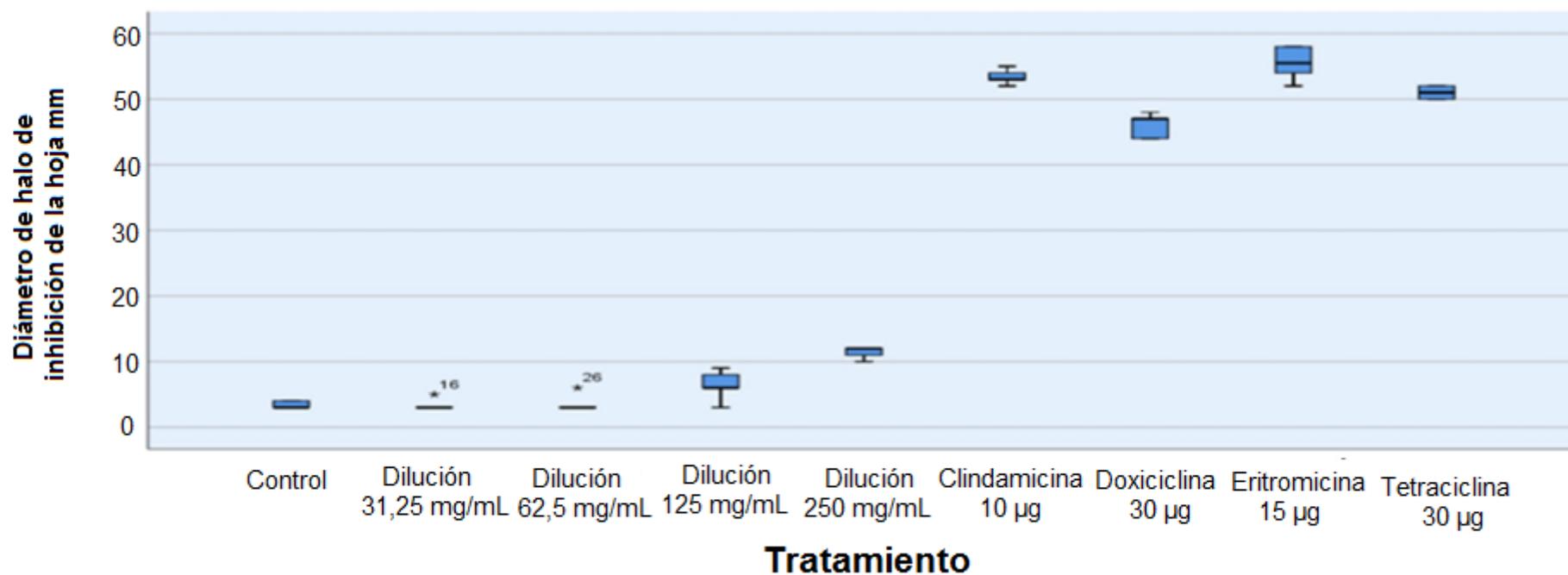
La Tabla 9 presenta la prueba de normalidad para los diámetros de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas.

Se plantean las siguientes hipótesis:

Ho: El Diámetro de halo de inhibición de la hoja presenta distribución normal.

H1: El Diámetro de halo de inhibición de la hoja no presenta distribución normal.

De acuerdo con los resultados que se presentan en la Tabla 9, podemos observar que los p valores para los tres diámetros de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de la hoja (diluciones de 250 mg/mL, de 62,5 mg/mL y de 31,25 mg/mL) tanto en la prueba de Kolmogorov-Smirnovb y Shapiro-Wilk son menores a 0,05; por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el diámetro de halo de inhibición de la hoja no presenta distribución normal. Por otro lado, para el caso de la dilución de 125 mg/mL, el resultado es diferente (p valor > 0,05). Al presentarse estas diferencias en una sola variable, se considera que los datos no presentan una distribución normal, por lo que no podemos aplicar la prueba ANOVA, y en su lugar usaremos una prueba no paramétrica (Prueba de Kruskal Wallis).



**Figura 10.** Diagrama de cajas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

La Figura 10 muestra de manera gráfica los valores de diámetros de halo de inhibición obtenidos para cada tratamiento. De izquierda a derecha, se observa cómo las primeras cajas se asemejan bastante, tanto en su ubicación vertical en el diagrama como en las amplitudes de las cajas propiamente dichas. El grupo control negativo y las dos primeras diluciones (31,25 y 62,5 mg/mL) se ubican muy parecidamente en el diagrama, lo que quiere decir que sus valores medios son muy similares. Aun en

la dilución de 125 mg/mL, se observa una caja cuyo extremo inferior es igual al de los tres primeros, mientras que, en la última dilución, por el contrario, su posición vertical ascendió unos milímetros. Por otro lado, con los elementos del grupo control positivo, se observa que estos se encuentran en la parte superior del diagrama, lo que indica unos diámetros más grandes. En esta caja, se evidencia unas amplitudes más grandes, lo cual significa valores más dispersos con desviaciones estándar más altas, lo que quiere decir que son valores más dispersos con desviaciones estimada más altas, lo que quiere decir que son valores con una homogeneidad menos pronunciada, esto puede deberse a los factores como el error humano al hacer la medición. No obstante, la diferencia de amplitudes es notoriamente mayor que de los extractos hidroalcohólicos, esto quiere decir que sus actividades antibacterianas no son comparables.

**Tabla 10.** Prueba de Kruskal Wallis del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

	Diámetro de halo de inhibición mm
<b>Chi-cuadrado</b>	85,140
<b>gl</b>	8
<b>Sig. asintótica</b>	0,000

Ho: No existe efecto inhibitorio.

H1: Al menos existe un grupo que presenta efecto inhibitorio.

De la Tabla 10, que presenta la prueba de Kruskal Wallis, se ve que el p valor es menor a 0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que al menos en un tratamiento existe un efecto inhibitorio. Para determinar cuál de los tratamientos presenta efecto inhibitorio, se empleará el método de comparaciones múltiples.

**Tabla 11.** Comparaciones del efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” y los grupos controles (Comparaciones múltiples Games-Howell).

(I) Tratamientos		Diferencia de medias (I-J)	p valor
<b>Control</b>	Dilución 31,25 mg/mL	0,2	0,996
	Dilución 62,5 mg/mL	0,1	1,000
	Dilución 125 mg/mL	-3,200*	0,003
	Dilución 250 mg/mL	-8,100*	0,000
<b>Clindamicina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	50,200*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	50,100*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	46,800*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	41,900*	0,000
<b>Doxiciclina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	42,800*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	42,700*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	39,400*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	34,500*	0,000
<b>Eritromicina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	52,200*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	52,100*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	48,800*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	43,900*	0,000
<b>Tetraciclina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	47,900*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	47,800*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	44,500*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	39,600*	0,000

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

La Tabla 11 compara, en primer lugar, las cuatro diluciones del extracto hidroalcohólico de las hojas con los grupos control, debido a que el p valor para las diluciones de 125 mg/mL y 250 mg/mL es menor a 0,05; de lo que se concluye que estas dos diluciones presentan un efecto inhibitorio. Finalmente, al comparar el grupo control positivo (clindamicina, doxiciclina, eritromicina y la tetraciclina) con cada una de las cuatro diluciones del extracto hidroalcohólico de las hojas, se puede observar que, para todos los casos, el p valor es menor a 0,05, lo cual indica y comprueba que el efecto de estas cuatro diluciones es inferior a la clindamicina, doxiciclina, eritromicina y la tetraciclina

**3.4.2. Prueba de sensibilidad antibiótica frente al *Cutibacterium acnes* del extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss.**

**Tabla 12.** Estadísticas descriptivas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

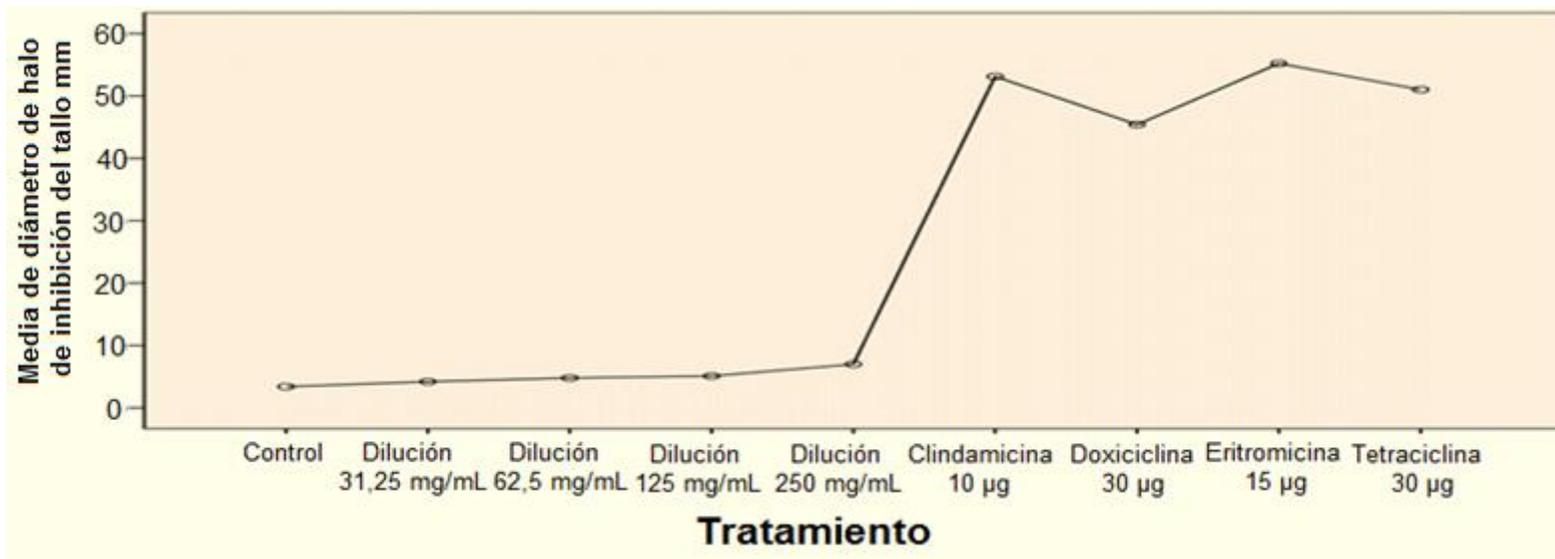
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Control	10	3,40	0,52	3	4
Dilución 31,25 mg/mL	10	4,20	1,03	3	5
Dilución 62,5 mg/mL	10	4,80	0,63	3	5
Dilución 125 mg/mL	10	5,10	0,32	5	6
Dilución 250 mg/mL	10	7,00	0,47	6	8
Clindamicina	10	53,40	1,07	52	55
Doxiciclina	10	46,00	1,76	44	48
Eritromicina	10	55,40	2,27	52	58
Tetraciclina	10	51,10	0,88	50	52

La Tabla 12 muestra indicadores estadísticos descriptivos del estudio al que se sometió el extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss en diferentes diluciones para comprobar su acción antibacteriana frente al *Cutibacterium acnes*, tomando como indicador el diámetro del halo de inhibición que este formó.

La tabla en mención muestra, en primer lugar, el efecto de un grupo control negativo (agua destilada). En las diez pruebas que se realizaron, el diámetro tuvo un valor promedio de 3,4 mm, lo cual demuestra la inactividad antibacteriana del agua destilada; y una desviación estándar de 0,52; lo cual refiere una gran homogeneidad entre los valores obtenidos.

En segundo lugar, se muestran los valores del estudio realizado con los extractos hidroalcohólicos del tallo en diferentes diluciones. En la dilución de 250 mg/mL, se registró un diámetro promedio de 7,00 mm, el cual es superior al formado por el del control negativo. Cuando este extracto se diluyó a la mitad (125 mg/mL), el diámetro promedio decreció a 5,10 mm (reducción del 27,14 %); cuando se diluyó a la cuarta parte (62,5 mg/mL), decreció a 4,8 mm (reducción del 31,42 %); y cuando se redujo a la octava parte (31,25 mg/mL), decreció a 4,20 mm (reducción del 40,00 %). En todos los casos, se observan valores ligeramente superiores a lo obtenidos con extractos de la hoja, lo cual evidencia una mayor actividad antibacteriana del tallo con respecto al extracto hidroalcohólico de la hoja.

Si se comparan los valores de los halos obtenidos con las diferentes diluciones del extracto del tallo, con los halos de los antibióticos de los que se hablen discos como grupo control positivo, y se observó que los halos de inhibición que estos formaban oscilaban entre 44 y 58 mm, donde el de mejor acción fue la eritromicina; el halo que este formó llegó a ser de un diámetro unas 5 veces mayor que la del extracto hidroalcohólico de la hoja empleada en su mayor dilución.



**Figura 11.** Gráfica de medias del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

La Figura 11 muestra el valor promedio de los diámetros de los halos de inhibición; en esta, se nota que, a medida que aumenta la concentración, aumenta también el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss. Se resalta que la pendiente se hace algo pronunciada entre la dilución de 125 a 250 mg/mL con respecto a los grupos control negativo. El salto del control negativo a la dilución de 31,25 mg/mL es escaso; mientras que el salto de la dilución de 250 mg/mL al grupo control positivo es de gran magnitud. Este comportamiento expresado en la gráfica no hace más que comprobar que las diluciones de 31,25 y 62,5 mg/mL no son lo suficientemente efectivas en cuanto a su acción antibacteriana, ya que la pendiente que existe entre estos tres elementos es casi escasa; también muestra que una dilución como la de 250 mg/mL todavía no llega a igualar el efecto antibacteriano de la clindamicina, doxiciclina, eritromicina y tetraciclina.

**Tabla 13.** Pruebas de normalidad del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	p valor	Estadístico	gl	p valor	
Diámetro de halo de inhibición mm del tallo	Dilución 31,25 mg/mL	0,381	10	0,000	0,640	10	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	0,524	10	0,000	0,366	10	0,000
	Dilución 125 mg/mL	0,524	10	0,000	0,366	10	0,000
	Dilución 250 mg/mL	0,400	10	0,000	0,658	10	0,000
	Clindamicina	0,245	10	0,090	0,892	10	0,177
	Doxiciclina	0,315	10	0,006	0,763	10	0,005
	Eritromicina	0,174	10	0,200*	0,893	10	0,182
	Tetraciclina	0,248	10	0,082	0,805	10	0,017

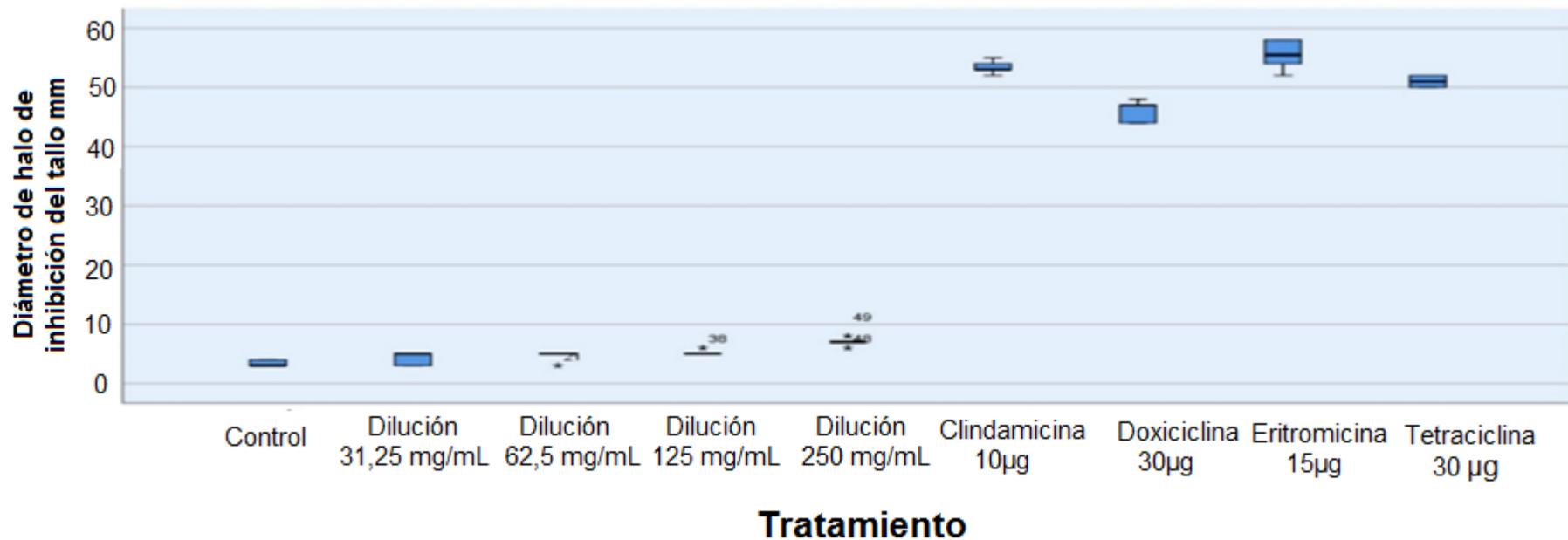
\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

La tabla 13 presenta la prueba de normalidad para los diámetros de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico del tallo. Para ello se plantea las siguientes hipótesis:

Ho: El Diámetro de halo de inhibición del tallo presenta distribución normal.

H1: El Diámetro de halo de inhibición del tallo no presenta distribución normal.

Como el p valor, tanto de la prueba de Kolmogorov-Smirnovb y Shapiro-Wilk presentan un p valor menor a 0,05 se rechaza la hipótesis nula (Ho), y se concluye que el diámetro de halo de inhibición no presenta distribución normal; por lo tanto, no es posible aplicar la prueba ANOVA, y en su lugar se empleará una prueba no paramétrica (Prueba de Kruskal Wallis).



**Figura 12.** Diagrama de cajas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

La figura 12 muestra que los halos de inhibición de los grupos con extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss presentan pocos valores diferentes, (2 a 3 valores) los cuales generan patrones de cajas como los que se observan.

Tanto en el grupo control negativo como el grupo de diluciones a 31,25 mg/dL, los diámetros presentan dos únicos valores en frecuencias muy similares con una ligera mayor dispersión del grupo a 31,25 mg/mL; las diluciones de 62,5; 125 y 250 mg/mL aumentan de diámetro de inhibición conforme aumenta la concentración, pero dentro de cada uno de ellos las mediciones son constantes con excepción de uno o dos datos que rompen ese patrón (datos atípicos). Los valores de inhibición de estas diluciones son muy inferiores al grupo control positivo.

El grupo control positivo en el caso de los discos de clindamicina y tetraciclina presentan una menor dispersión en las mediciones y niveles medios muy similares, este último presenta solo 3 valores diferentes.

Por su parte el disco de doxiciclina es heterogéneo, es decir con alta dispersión en las mediciones, y la mitad de los datos se concentran en valores superiores 47 mm de diámetro. Con respecto a la eritromicina al igual que doxiciclina presenta una mayor dispersión en comparación al resto, pero sus diámetros de inhibición presentan un nivel medio ligeramente superior a los del grupo patrón.

**Tabla 14.** Prueba de Kruskal Wallis del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Diámetro de halo de inhibición mm	
<b>Chi-cuadrado</b>	85,224
<b>gl</b>	8
<b>Sig. asintótica</b>	0,000

La tabla 14 presenta la prueba de Kruskal Wallis:

Ho: No existe efecto inhibitorio.

H1: Al menos existe un grupo que presenta efecto inhibitorio.

La Tabla 14 muestra la Prueba de Kruskal Wallis, en la que se observa que el p valor es menor a 0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que al menos en un tratamiento existe un efecto inhibitorio. Para determinar cuál de los tratamientos presenta efecto inhibitorio, se empleará el método de comparaciones múltiples, el cual se describe a continuación.

**Tabla 15.** Comparaciones del efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” y los grupos controles (Comparaciones múltiples Games-Howell).

(I) Tratamientos		Diferencia de medias (I-J)	p valor
<b>Control</b>	Dilución 31,25 mg/mL	-0,8	0,461
	Dilución 62,5 mg/mL	-1,400*	0,001
	Dilución 125 mg/mL	-1,700*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	-3,600*	0,000
<b>Clindamicina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	48,900*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	48,300*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	48,000*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	46,100*	0,000
<b>Doxiciclina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	41,800*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	41,200*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	40,900*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	39,000*	0,000
<b>Eritromicina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	51,200*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	50,600*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	50,300*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	48,400*	0,000
<b>Tetraciclina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	46,900*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	46,300*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	46,000*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	44,100*	0,000

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

La tabla 15 compara, en primer lugar, las cuatro diluciones del extracto hidroalcohólico del tallo de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” con los grupos control, debido a que el p valor para las diluciones de 62,5; 125 y 250 mg/mL es menor a 0,05; de lo que se concluye que estas tres diluciones presentan un efecto inhibitorio. Finalmente, al comparar el grupo control positivo (clindamicina, doxiciclina, eritromicina y la tetraciclina) con cada una de las cuatro diluciones del extracto hidroalcohólico del tallo, se puede observar que, para todos los casos, el p valor es menor a 0,05, lo cual indica y comprueba que el efecto de estas cuatro diluciones es inferior a la clindamicina, doxiciclina, eritromicina y la tetraciclina.

**3.4.3. Prueba de sensibilidad antibiótica frente al *Cutibacterium acnes* del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss.**

**Tabla 16.** Estadísticas descriptivas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

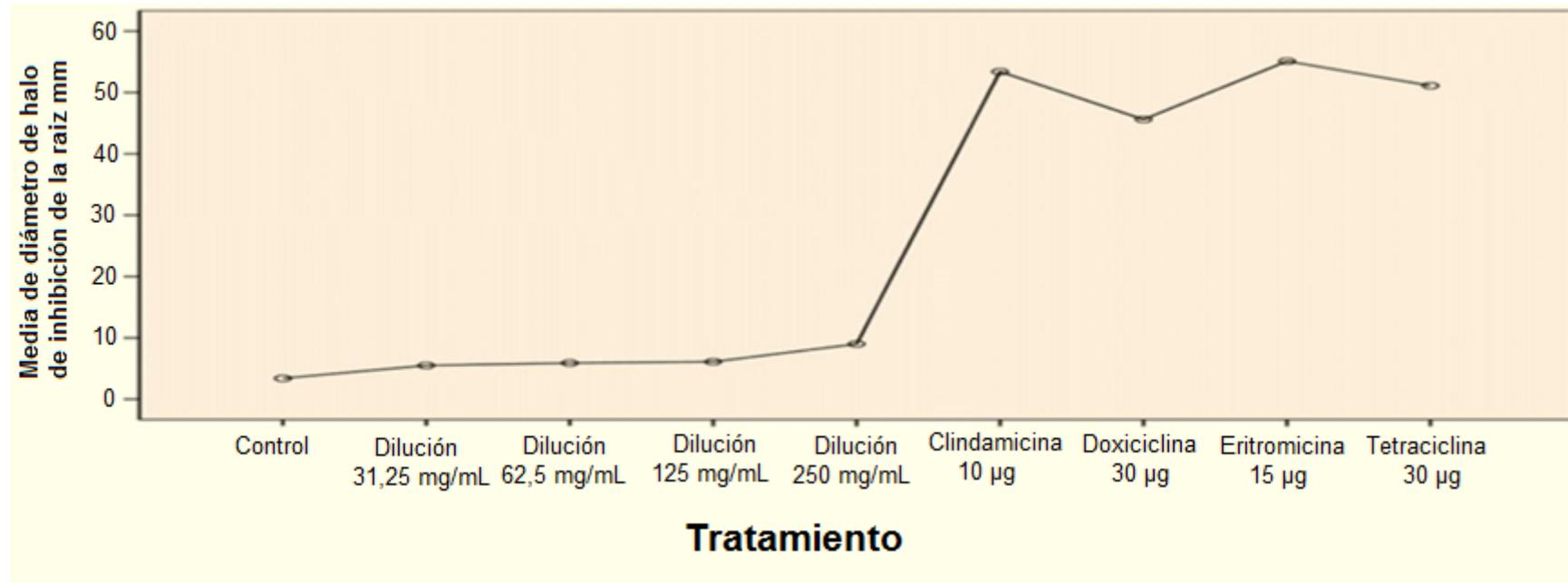
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Control	10	3,40	0,52	3	4
Dilución 31,25 mg/mL	10	5,50	0,53	5	6
Dilución 62,5 mg/mL	10	5,90	0,57	5	7
Dilución 125 mg/mL	10	6,10	0,57	5	7
Dilución 250 mg/mL	10	9,00	0,47	8	10
Clindamicina	10	53,40	1,07	52	55
Doxiciclina	10	46,00	1,76	44	48
Eritromicina	10	55,40	2,27	52	58
Tetraciclina	10	51,10	0,88	50	52

La Tabla 16 muestra indicadores estadísticos descriptivos del estudio al que se sometió el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss en diferentes diluciones para comprobar su acción antibacteriana frente al *Cutibacterium acnes*, tomando como indicador el diámetro del halo de inhibición que este formó.

La tabla en mención muestra, en primer lugar, el efecto de un grupo control negativo (agua destilada). En las diez pruebas que se realizaron, el diámetro tuvo un valor promedio de 3,4 mm, lo cual demuestra la inactividad antibacteriana del agua destilada; y una desviación estándar de 0,52; lo cual refiere una gran homogeneidad entre los valores obtenidos.

En segundo lugar, se muestran los valores del estudio realizado con los extractos hidroalcohólicos de la raíz en diferentes diluciones. En la dilución de 250 mg/mL, se registró un diámetro promedio de 9,00 mm, el cual es superior al formado por el del control negativo. Cuando este extracto se diluyó a la mitad (125 mg/mL), el diámetro promedio decreció a 6,10 mm (reducción del 32,22 %); cuando se diluyó a la cuarta parte (62,5 mg/mL), decreció a 5,90 mm (reducción del 34,44 %); y cuando se redujo a la octava parte (31,25 mg/mL), decreció a 4,20 mm (reducción del 53,33 %). En todos los casos, se observan valores ligeramente superiores a lo obtenidos con extractos de la hoja, lo cual evidencia una mayor actividad antibacteriana del tallo con respecto al extracto hidroalcohólico de la hoja de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Si se comparan los valores de los halos obtenidos con las diferentes diluciones del extracto del tallo de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”, con los halos de los antibióticos de los que se hablen discos como grupo control positivo, y se observó que los halos de inhibición que estos formaban oscilaban entre 44 y 58 mm, donde la mejor acción fue con Eritromicina; el halo que este formó llegó a ser de un diámetro unas 5 veces mayor que la del extracto hidroalcohólico de la hoja empleada en su mayor dilución.



**Figura 13.** Gráfica de medias del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”

La Figura 13 muestra el valor promedio de los diámetros de los halos de inhibición; en esta, se nota que, a medida que aumenta la concentración, aumenta también el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss. Se resalta que la pendiente se hace más pronunciada entre la dilución de 125 a 250 mg/mL con respecto a los grupos control negativo. El salto del control negativo a la dilución de 31,25 mg/mL es algo apreciable; mientras que el salto de la dilución de 250 mg/mL al grupo control positivo es de gran magnitud. Este comportamiento expresado en la gráfica no hace más que comprobar que la diluciones de 31,25; 62,5 y 125 mg/mL presenta algo de acción antibacteriana, ya que la pendiente que existe entre estos cuatro elementos es algo apreciable; también muestra que una dilución como la de 250 mg/mL todavía no llega a igualar el efecto antibacteriano de la clindamicina, doxiciclina, eritromicina y tetraciclina.

**Tabla 17.** Pruebas de normalidad del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	p valor	Estadístico	gl	p valor	
Diámetro de halo de inhibición mm de la raíz	Dilución 31,25 mg/mL	0,329	10	0,003	0,655	10	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	0,370	10	0,000	0,752	10	0,004
	Dilución 125 mg/mL	0,370	10	0,000	0,752	10	0,004
	Dilución 250 mg/mL	0,400	10	0,000	0,658	10	0,000
	Clindamicina	0,245	10	0,090	0,892	10	0,177
	Doxiciclina	0,315	10	0,006	0,763	10	0,005
	Eritromicina	0,174	10	0,200*	0,893	10	0,182
	Tetraciclina	0,248	10	0,082	0,805	10	0,017

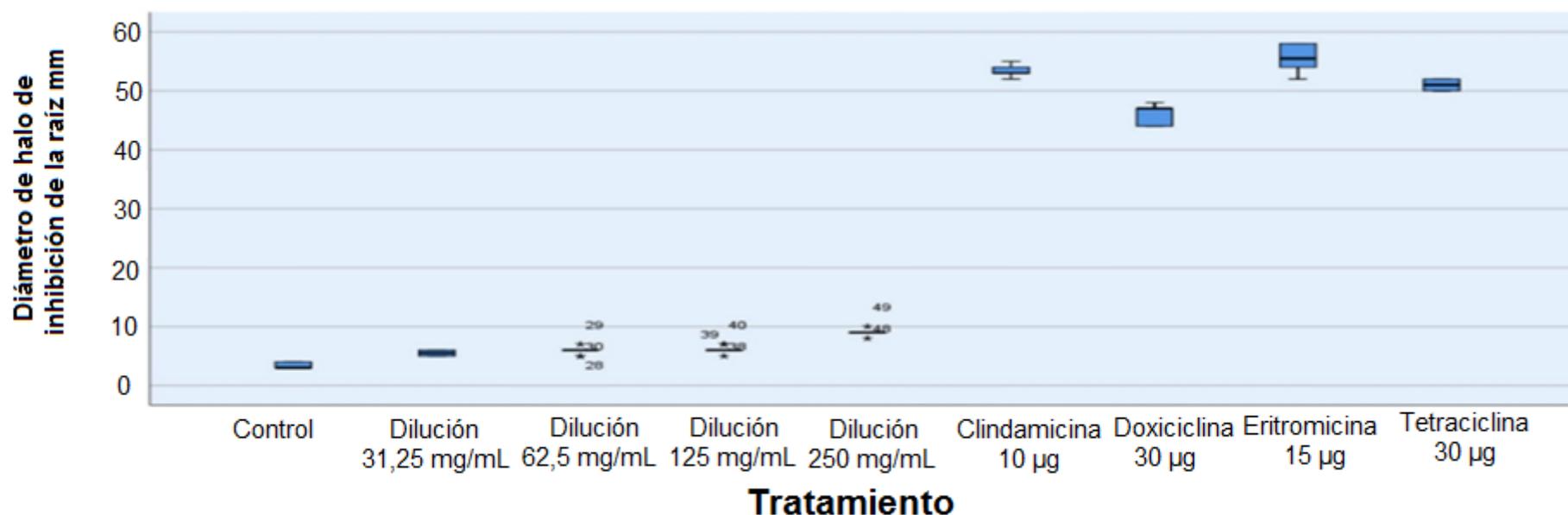
\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

La tabla 17 presenta la prueba de normalidad para los diámetros de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de la raíz. Para ello, se plantea las siguientes hipótesis:

Ho: El Diámetro de halo de inhibición de la raíz presenta distribución normal.

H1: El Diámetro de halo de inhibición de la raíz no presenta distribución normal.

Tanto en la pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, se presenta un p valor menor a 0,05; por lo que se rechaza la hipótesis nula (Ho), y se concluye que el diámetro de halo de inhibición no presenta distribución normal; por lo tanto, no se puede aplicar la prueba ANOVA, y en su lugar se utilizará una prueba no paramétrica (Prueba de Kruskal Wallis).



**Figura 14.** Diagrama de cajas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

La figura 14 muestra ser similar a los resultados de los diámetros de halos de inhibición observados en la hoja y tallo, los mismos patrones se repiten en el caso de la raíz, es decir, pocos valores diferentes y en algunos casos valores atípicos.

El grupo de dilución a 31,25 mg/dL, los diámetros presentan dos únicos valores con frecuencias de 50% y dispersión igual al grupo control negativo, pero con nivel medio superior; las diluciones de 62,5; 125 y 250 mg/mL aumentan de diámetro de inhibición conforme aumenta la concentración, pero dentro de cada uno de ellos las mediciones son constantes con dos y tres datos atípicos superiores e inferiores. De modo similar a las diluciones de hoja y tallo los valores de inhibición de estas diluciones son también muy inferiores a los del grupo patrón.

El grupo control positivo en el caso de los discos de clindamicina y tetraciclina presentan una menor dispersión en las mediciones y niveles medios muy similares, este último presenta solo 3 valores diferentes.

Por su parte el disco de doxiciclina es heterogéneo, es decir con alta dispersión en las mediciones, y la mitad de los datos se concentran en valores superiores 47 mm de diámetro. Con respecto a la eritromicina al igual que doxiciclina presenta una mayor dispersión en comparación al resto, pero sus diámetros de inhibición presentan un nivel medio ligeramente superior a los del grupo patrón.

**Tabla 18.** Prueba de Kruskal Wallis del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Diámetro de halo de inhibición mm	
<b>Chi-cuadrado</b>	85,598
<b>gl</b>	8
<b>Sig. asintótica</b>	0,000

La Tabla 18 presenta la prueba de Kruskal Wallis:

Ho: No existe efecto inhibitorio.

H1: Al menos, existe un grupo que presenta efecto inhibitorio.

La Tabla 18 muestra la Prueba de Kruskal Wallis, en la que se observa que el p valor es menor a 0,05, por esto se rechaza la hipótesis nula y se concluye que al menos en un tratamiento existe un efecto inhibitorio. Para determinar cuál de los tratamientos presenta efecto inhibitorio, se empleará el método de comparaciones múltiples, el cual se describirá más adelante.

**Tabla 19.** Comparaciones del efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” y los grupos controles (Comparaciones múltiples Games-Howell).

(I) Tratamientos		Diferencia de medias (I-J)	p valor
<b>Control</b>	Dilución 31,25 mg/mL	-2,100*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	-2,500*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	-2,700*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	-5,600*	0,000
<b>Clindamicina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	47,900*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	47,500*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	47,300*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	44,400*	0,000
<b>Doxiciclina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	40,500*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	40,100*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	39,900*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	37,000*	0,000
<b>Eritromicina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	49,900*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	49,500*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	49,300*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	46,400*	0,000
<b>Tetraciclina</b>	Dilución 31,25 mg/mL	45,600*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	45,200*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	45,000*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	42,100*	0,000

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

La tabla 19 compara, en primer lugar, las cuatro diluciones del extracto hidroalcohólico de la raíz con los grupos control, debido a que el p valor para las diluciones de 31,25; 62,5; 125 y 250 mg/mL es menor a 0,05; de lo que se concluye que estas cuatro diluciones presentan un efecto inhibitorio. Finalmente, al comparar el grupo control positivo (clindamicina, doxiciclina, eritromicina y la tetraciclina) con cada una de las cuatro diluciones del extracto hidroalcohólico de la raíz, se puede observar que, para todos los casos, el p valor es menor a 0,05, lo cual indica y comprueba que el efecto de estas cuatro diluciones es inferior a la clindamicina, doxiciclina, eritromicina y la tetraciclina.

**3.4.4. Prueba de sensibilidad antibiótica frente al *Cutibacterium acnes* del extracto hidroalcohólico de las flores de *Hypericum silenoides* Juss**

**Tabla 20.** Estadísticas descriptivas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las flores de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

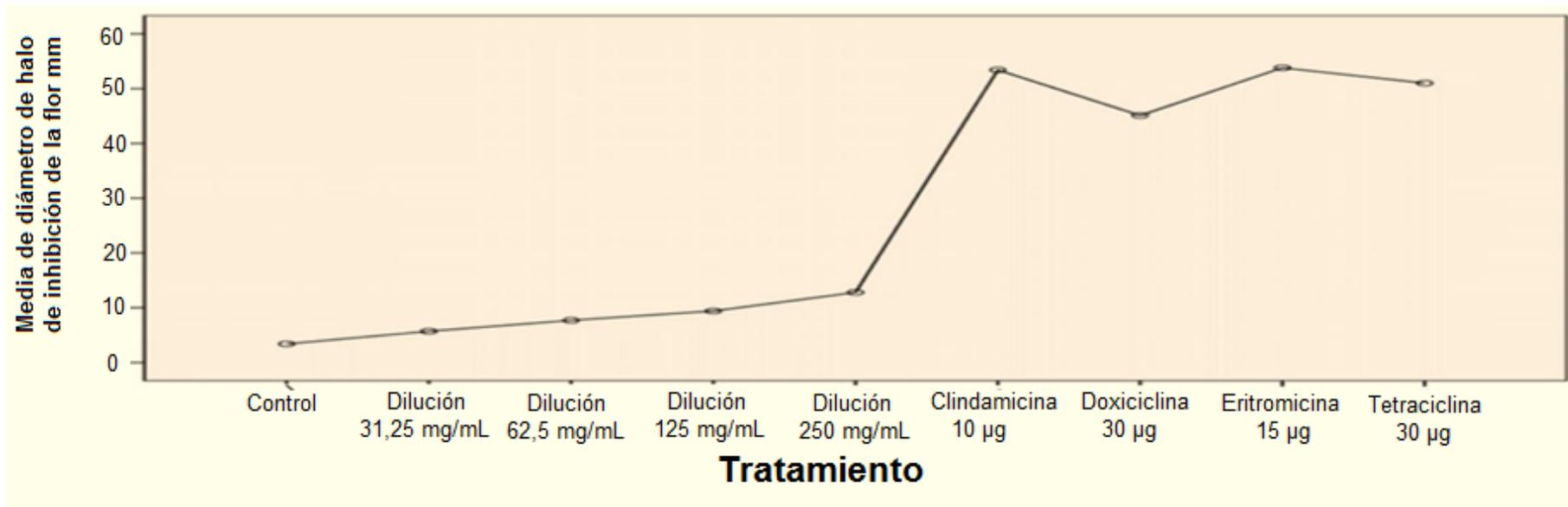
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Control	10	3,40	0,52	3	4
Dilución 31,25 mg/mL	10	5,70	0,67	5	7
Dilución 62,5 mg/mL	10	7,70	0,67	7	9
Dilución 125 mg/mL	10	9,40	0,52	9	10
Dilución 250 mg/mL	10	12,80	1,23	11	15
Clindamicina	10	53,40	1,07	52	55
Doxiciclina	10	46,00	1,76	44	48
Eritromicina	10	55,40	2,27	52	58
Tetraciclina	10	51,10	0,88	50	52

La Tabla 20 muestra indicadores estadísticos descriptivos del estudio al que se sometió el extracto hidroalcohólico de las flores de *Hypericum silenoides* Juss en diferentes diluciones para comprobar su acción antibacteriana frente al *Cutibacterium acnes*, tomando como indicador el diámetro del halo de inhibición que este formó.

La tabla en mención muestra, en primer lugar, el efecto de un grupo control negativo (agua destilada). En las diez pruebas que se realizaron, el diámetro tuvo un valor promedio de 3,4 mm, lo cual demuestra la inactividad antibacteriana del agua destilada; y una desviación estándar de 0,52; lo cual refiere una gran homogeneidad entre los valores obtenidos.

En segundo lugar, se muestran los valores del estudio realizado con los extractos hidroalcohólicos de las flores en diferentes diluciones. En la dilución de 250 mg/mL, se registró un diámetro promedio de 12,80 mm, el cual es superior al formado por el del control negativo. Cuando este extracto se diluyó a la mitad (125 mg/mL), el diámetro promedio decreció a 9,40 mm (reducción del 26,56 %); cuando se diluyó a la cuarta parte (62,5 mg/mL), decreció a 7,70 mm (reducción del 39,84 %); y cuando se redujo a la octava parte (31,25 mg/mL), decreció a 5,70 mm (reducción del 55,46 %). Esto nos da una idea de que desde una dilución considerable como son las de 31,25; 62,5; 125 y 250 mg/mL se pueden tener halos más grandes diferenciados de un agente neutro como fue el agua destilada empleada como control negativo.

Por último, se emplearon cuatro antibióticos en discos como grupo control positivo y se observó que los halos de inhibición que estos formaban oscilaban entre 44 y 58 mm, donde el de mejor acción fue la Eritromicina; el halo que este formó llegó a ser de un diámetro unas 5 veces mayor que la del extracto hidroalcohólico de la flor empleada en su mayor dilución.



**Figura 15.** Grafica de medias del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las flores de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

La Figura 15 muestra el valor promedio de los diámetros de los halos de inhibición; en esta, se nota que, a medida que aumenta la concentración, aumenta también el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de la flor de *Hypericum silenoides* Juss. Se resalta que la pendiente se hace más pronunciada entre la dilución de 125 a 250 mg/mL con respecto a los grupos control negativo. El salto del control negativo a la dilución de 31,25 mg/mL es algo apreciable; mientras que el salto de la dilución de 250 mg/mL al grupo control positivo es de gran magnitud. Este comportamiento expresado en la gráfica no hace más que comprobar que la diluciones de 31,25; 62,5 y 125 mg/mL presenta algo de acción antibacteriana, ya que la pendiente que existe entre estos cuatro elementos es algo apreciable; también muestra que una dilución como la de 250 mg/mL todavía no llega a igualar el efecto antibacteriano de la clindamicina, doxiciclina, eritromicina y tetraciclina.

**Tabla 21.** Pruebas de normalidad del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las flores de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

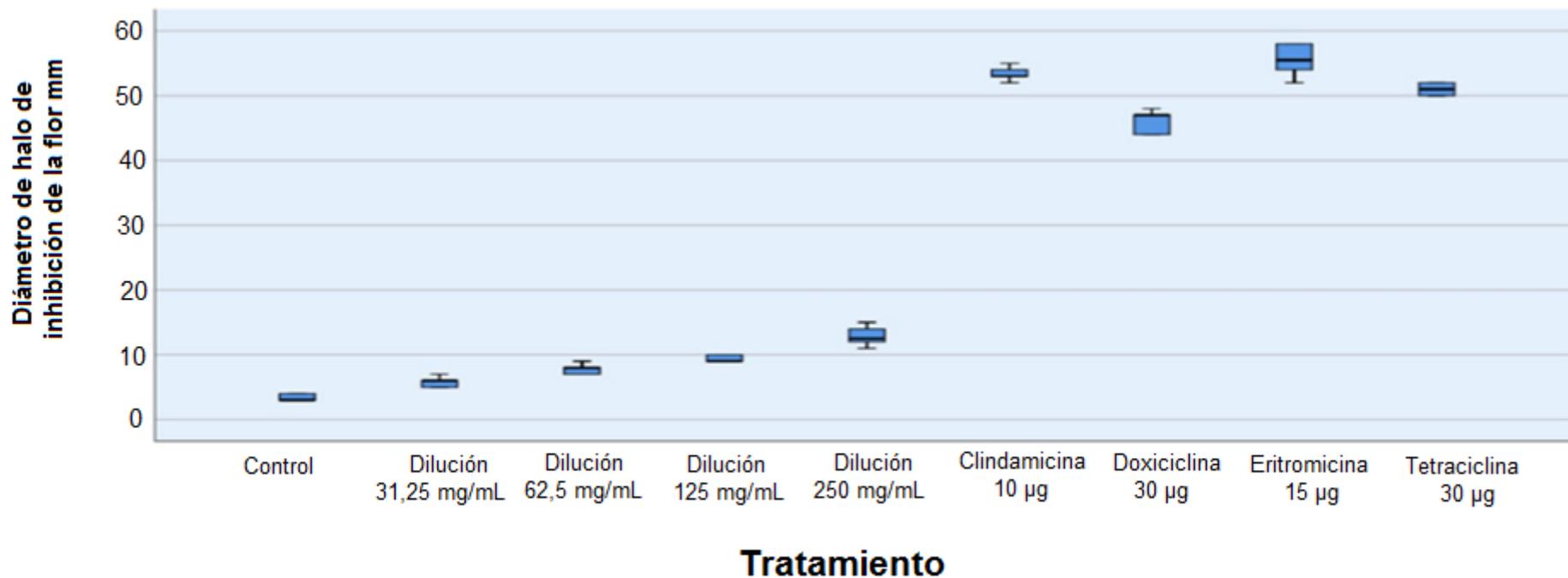
Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	p valor	Estadístico	gl	p valor	
Diámetro de halo de inhibición mm de la flor	Dilución 31,25 mg/mL	0,272	10	0,035	0,802	10	0,015
	Dilución 62,5 mg/mL	0,272	10	0,035	0,802	10	0,015
	Dilución 125 mg/mL	0,381	10	0,000	0,640	10	0,000
	Dilución 250 mg/mL	0,242	10	0,099	0,924	10	0,389
	Clindamicina	0,245	10	0,090	0,892	10	0,177
	Doxiciclina	0,315	10	0,006	0,763	10	0,005
	Eritromicina	0,174	10	0,200*	0,893	10	0,182
	Tetraciclina	0,248	10	0,082	0,805	10	0,017

La tabla 21 presenta la prueba de normalidad para los diámetros de halo de inhibición de la flor. Para ello, se plantean las siguientes hipótesis:

Ho: El Diámetro de halo de inhibición de la flor presenta distribución normal.

H1: El Diámetro de halo de inhibición de la flor no presenta distribución normal.

De acuerdo con los resultados que se presentan en la Tabla 17, podemos observar que los p valores para los tres diámetros de halo de inhibición de la flor (dilución de 125 mg/mL, de 62,5 mg/mL y de 31,25mg/mL) tanto en la prueba de Kolmogorov-Smirnovb y Shapiro-Wilk son menores a 0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el diámetro de halo de inhibición de la flor no presenta distribución normal. Por otro lado, para el caso de la dilución de 250 mg/mL, el resultado es diferente (p valor > 0,05). Al presentarse estas diferencias en una sola variable, se considera que los datos no presentan una distribución normal, por lo que no se puede aplicar la prueba ANOVA y en su lugar se utilizará una prueba no paramétrica (Prueba de Kruskal Wallis).



**Figura 16.** Diagrama de cajas del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las flores de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

La Figura 16 muestra que los halos de inhibición de los grupos tratados con extracto hidroalcohólico de la flor de *Hypericum silenoides* Juss presentan pocos valores diferentes, (2 a 3 valores) pero en frecuencias similares (distribución uniforme) sin presencia de valores atípicos. Además, se observa claramente que a mayor concentración el nivel medio de la inhibición aumenta, con una dispersión muy similar en las tres primeras diluciones y un aumento de dispersión de inhibición de la difusión a 250 mg/mL. De modo similar a las diluciones de hoja y tallo los valores de inhibición de estas diluciones son también muy inferiores a los del grupo patrón.

El grupo control positivo en el caso de los discos de clindamicina y tetraciclina presentan una menor dispersión en las mediciones y niveles medios muy similares, este último presenta solo 3 valores diferentes.

Por su parte el disco de doxiciclina es heterogéneo, es decir con alta dispersión en las mediciones, y la mitad de los datos se concentran en valores superiores 47 mm de diámetro. Con respecto a la eritromicina al igual que doxiciclina presenta una mayor dispersión en comparación al resto, pero sus diámetros de inhibición presentan un nivel medio ligeramente superior a los del grupo patrón.

**Tabla 22.** Prueba de Kruskal Wallis del diámetro de halo de inhibición en mm del extracto hidroalcohólico de las flores de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Diámetro de halo de inhibición mm	
Chi-cuadrado	86,436
gl	8
Sig. asintótica	0,000

La tabla 22 presenta la prueba de Kruskal Wallis:

Ho: No existe efecto inhibitorio.

H1: Al menos existe un grupo que presenta efecto inhibitorio.

La Tabla 22 muestra la Prueba de Kruskal Wallis, en la que se observa que el p valor es menor a 0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que al menos en un tratamiento existe un efecto inhibitorio. Para determinar cuál de los tratamientos presenta efecto inhibitorio, se empleará el método de comparaciones múltiples, el cual se describe a continuación.

**Tabla 23.** Comparaciones del efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de las flores de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” y los grupos controles (Comparaciones múltiples Games-Howell).

(I) Tratamientos		Diferencia de medias (I-J)	p valor
Control	Dilución 31,25 mg/mL	-2,300*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	-4,300*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	-6,000*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	-9,400*	0,000
Clindamicina	Dilución 31,25 mg/mL	47,700*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	45,700*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	44,000*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	40,600*	0,000
Doxiciclina	Dilución 31,25 mg/mL	40,300*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	38,300*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	36,600*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	33,200*	0,000
Eritromicina	Dilución 31,25 mg/mL	49,700*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	47,700*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	46,000*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	42,600*	0,000
Tetraciclina	Dilución 31,25 mg/mL	45,400*	0,000
	Dilución 62,5 mg/mL	43,400*	0,000
	Dilución 125 mg/mL	41,700*	0,000
	Dilución 250 mg/mL	38,300*	0,000

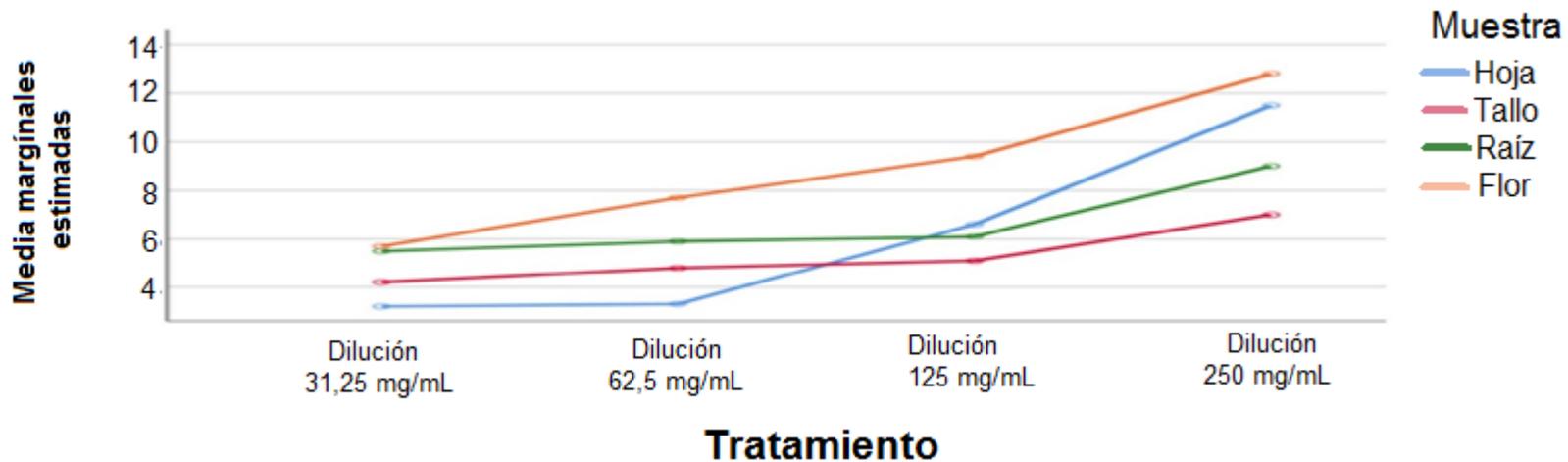
\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

La Tabla 23 compara, en primer lugar, las cuatro diluciones del extracto hidroalcohólico de la flor con los grupos control, debido a que el p valor para las diluciones de 31,25; 62,5; 125 y 250 mg/mL es menor a 0,05; de lo que se concluye que estas cuatro diluciones presentan un efecto inhibitorio. Finalmente, al comparar el grupo control positivo (clindamicina, doxiciclina, eritromicina y la tetraciclina) con cada una de las cuatro diluciones del extracto hidroalcohólico de la flor, se puede observar que, para todos los casos, el p valor es menor a 0,05, lo cual indica y comprueba que el efecto de estas cuatro diluciones es inferior a la clindamicina, doxiciclina, eritromicina y la tetraciclina.

**Tabla 24.** Estadísticas descriptivas del diámetro de halo de inhibición en mm de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” (Actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes*).

Tratamiento		N	Media	Desviación Estándar
Dilución 31.25 mg/mL	Hoja	10	3,20	0,632
	Tallo	10	4,20	1,033
	Raíz	10	5,50	0,527
	Flor	10	5,70	0,675
Dilución 62.5 mg/mL	Hoja	10	3,30	0,949
	Tallo	10	4,80	0,632
	Raíz	10	5,90	0,568
	Flor	10	7,70	0,675
Dilución 125 mg/mL	Hoja	10	6,60	1,713
	Tallo	10	5,10	0,316
	Raíz	10	6,10	0,568
	Flor	10	9,40	0,516
Dilución 250 mg/mL	Hoja	10	11,50	0,707
	Tallo	10	7,00	0,471
	Raíz	10	9,00	0,471
	Flor	10	12,80	1,229

La Tabla 24 muestra los promedios de los diámetros de halo de inhibición por cada uno de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss y por concentración de la dilución. Se observa que los diámetros de halo de inhibición son mayores para el extracto hidroalcohólico de las flores en todos los casos, mientras que los valores menores corresponden para el extracto hidroalcohólico de las hojas en diluciones de 31,25 y 62,5 mg/mL; y para el extracto hidroalcohólico del tallo, para diluciones mayores a 125 y 250 mg/mL.



**Figura 17.** Medias marginales estimadas de Diámetro de halo de inhibición en mm de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

La figura 17 muestra, en general, que a medida que aumenta la concentración, aumenta también la actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes*, tanto para la hoja, tallo, raíz y la flor.

Esta figura ayuda a ver el comportamiento (en términos del tamaño de los diámetros de halo de inhibición) en conjunto de los cuatro extractos en cada una de sus cuatro diluciones. En esta, se puede observar que para una dilución de 31,25 mg/mL, ningún extracto supera los 6 mm; a una dilución de 62,5 mg/mL, los diámetros de cada extracto aumentan en una pendiente similar.

Para una dilución de 125 mg/mL, los diámetros del tallo y raíz aumentan muy poco en comparación con las de la hoja y de la flor; estas dos últimas tienen una pendiente más grande en el salto de las diluciones de 62,5 y 125 mg/mL. Este comportamiento se repite en el salto a la última dilución de 250 mg/mL, y el diámetro del halo de inhibición formado por el extracto hidroalcohólico de la flor resulta ser el que tiene mejor acción antibacteriana: llega a tener un valor de 12,80 mm.

**Tabla 25.** Prueba de homogeneidad de varianzas de la actividad antibacteriana (Diámetro del halo de inhibición) por dilución.

Tratamiento	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Dilución 31.25 mg/mL	6,529	3	36	0,001
Dilución 62.5 mg/mL	0,433	3	36	0,731
Dilución 125 mg/mL	8,168	3	36	0,000
Dilución 250 mg/mL	6,857	3	36	0,001

La tabla 25 nos indica que la variabilidad de la actividad antibacteriana observada en cada parte de la planta es diferente, esto sucede en las diluciones de 31; 25; 125 y 250 mg/mL; lo cual imposibilita el uso de un ANOVA, por lo que se usará una prueba no paramétrica que no necesite homogeneidad de varianzas.

**Tabla 26.** Prueba de Kruskal Wallis de la actividad antibacteriana de los de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” (Diámetro del halo de inhibición) por dilución.

Tratamiento	Diámetro de halo de inhibición mm	
Dilución 31.25 mg/mL	H de Kruskal-Wallis	25,743
	gl	3
	Sig. asintótica	0,000
Dilución 62.5 mg/mL	H de Kruskal-Wallis	33,264
	gl	3
	Sig. asintótica	0,000
Dilución 125 mg/mL	H de Kruskal-Wallis	29,923
	gl	3
	Sig. asintótica	0,000
Dilución 250 mg/mL	H de Kruskal-Wallis	35,276
	gl	3
	Sig. asintótica	0,000

La tabla 26 muestra la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis donde permite concluir que la actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* es diferente en cada parte de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss. Para determinar qué parte presenta mayor actividad se utilizarán las comparaciones múltiples Games-Howel

**Tabla 27.** Comparaciones múltiples Games-Howell de la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” (Diámetro del halo de inhibición) por dilución.

Concentración	Muestra I	Muestra J	Diferencia de medias (I-J)	Sig.
Dilución 31.25 mg/mL	Flor	Hoja	2,500*	0,000
		Tallo	1,500*	0,007
		Raíz	0,200	0,880
Dilución 62.5 mg/mL	Flor	Hoja	4,400*	0,000
		Tallo	2,900*	0,000
		Raíz	1,800*	0,000
Dilución 125 mg/mL	Flor	Hoja	2,800*	0,002
		Tallo	4,300*	0,000
		Raíz	3,300*	0,000
Dilución 250 mg/mL	Flor	Hoja	1,300*	0,049
		Tallo	5,800*	0,000
		Raíz	3,800*	0,000

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

La tabla 27 muestra que las comparaciones de múltiples Games-Howell permiten concluir que, para diluciones entre 31,25 y 250 mg/mL, la actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* es mayor con el extracto hidroalcohólico de la flor (p valor < 0,05).

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusiones

A partir de los hallazgos encontrados en la Tabla 2, se reporta la solubilidad del extracto hidroalcohólico de la hoja de la planta *Hypericum silenoides* Juss, y se obtiene que el extracto se disuelve en agua destilada, metanol, etanol, n-butanol. Estos resultados guardan correlación con lo que sostiene Plazas, <sup>(6)</sup> quien señala que los extractos etanólicos de las hojas de las especies vegetales *Hypericum mexicanum*, *Hypericum myricariifolium* y *Hypericum juniperinum* presentan metabolitos por la prueba de fraccionamiento con los solventes hexano, cloroformo, acetato y metanol; ya que presenta mayor rendimiento con el metanol y un bajo rendimiento de extracción con el acetato y cloroformo. Asimismo, en la presente investigación, se obtiene que el extracto hidroalcohólico de la hoja, flor, tallo y raíz de la planta *Hypericum silenoides* Juss tiene solubilidad en agua destilada, metanol, etanol, n-butanol.

En la Tabla 3 se muestra que los extractos hidroalcohólicos del tallo, hojas y flores de la planta *Hypericum silenoides* Juss tienen azúcares, grupos aminos libres, flavonoides, esteroides, taninos, fenoles, cumarinas y lactonas sesquiterpénicas, lo cual guarda relación con la investigación de Mejía <sup>(3)</sup> donde expone la prueba fitoquímica del extracto metanólico del tallo, hoja y flor de la planta *Hypericum juniperium* que presentan flavonoides, fenoles y taninos. Sin embargo, también se reportan la presencia de terpenos y saponinas. Por otra parte, Plazas <sup>(6)</sup> realizó un tamizaje fitoquímico en las hojas de las plantas *Hypericum myricariifolium*, *Hypericum juniperium* y *Hypericum mexicanum*, donde reportan la presencia de esteroides, fenoles, flavonoides, quinonas y cumarinas; de igual manera, la Tabla 3 muestra que el extracto hidroalcohólico de hoja en la especie vegetal de *Hypericum silenoides* Juss, coincide con la obtención de flavonoides, esteroides, fenoles y cumarinas. Asimismo, Villar <sup>(81)</sup> quien hace una revisión bibliográfica de la planta *Hypericum perforatum*, menciona su composición química, donde evidencia la presencia de flavonoides, xantonas, taninos, ácidos fenólicos,

triterpenos, carotenoides, esteroides, derivados diantrónicos y derivados floroglucínicos.

Al comparar las evidencias de Mejía,<sup>(3)</sup> Plazas<sup>(6)</sup> y Villar<sup>(81)</sup> se puede deducir que los compuestos que se encuentran con mayor frecuencia en la familia *Hypericaceae* son flavonoides y fenoles. También se puede inferir que en algunas especies de la familia se encuentran compuestos como los taninos.

Los resultados que se muestran según la Tabla 3 de análisis fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos de la hoja, flores, tallo y raíz, guardan relación con los resultados obtenidos por Bussman,<sup>(36)</sup> el cual realiza el análisis cualitativo de 78 plantas oriundas de Lambayeque - Perú, mediante una prueba cualitativa para determinar los metabolitos presentes en estas; entre ellas la planta *Hypericum silenoides* Juss; en esto coincide con la presencia de flavonoides, taninos. También Ccana<sup>(39)</sup> en su investigación determina el análisis cualitativo de metabolitos de la parte aérea de la planta *Hypericum silenoides* Juss por HPLC, presentando la existencia de flavonoides, lo que concuerda con la Tabla 3 de los extractos hidroalcohólicos de la hoja, flores y tallo. Asimismo, en nuestra investigación se incluyó el extracto hidroalcohólico de la raíz, donde también se presentan flavonoides.

Igualmente, Sánchez<sup>(66)</sup> determinó los compuestos químicos por marcha fitoquímica de partes aéreas de *Hypericum silenoides* Juss en un extracto con ciclohexano; sus resultados encajan con lo expuesto en la Tabla 3 de los extractos hidroalcohólicos de la hoja, flores y tallo con la presencia de azúcares reductores, esteroides, flavonoides y compuestos fenólicos.

En el presente trabajo no concuerda con lo reportado por Bussman<sup>(36)</sup> en su estudio del *Hypericum silenoides* Juss no tiene la presencia de esteroides, Sin embargo, Sánchez,<sup>(66)</sup> en la marcha fitoquímica de las partes aéreas de la planta *Hypericum silenoides* Juss si contienen esteroides que concuerdan con el presente trabajo.

El género *Hypericum* posee actividad antioxidante, los cuales han sido reportados por Zducn<sup>(63)</sup> en su estudio efectuado sobre los extractos

hidroalcohólicos de 7 especies de *Hypericum* y utilizando el método DPPH, determina que las especies vegetales con considerable actividad antioxidante fueron *Hypericum acutum*, *Hypericum maculatum*, *Hypericum hirsutum*, *Hypericum androsaemum*. De igual forma, estudios realizados por Napoli <sup>(11)</sup> reportan principalmente la actividad antioxidante del *Hypericum androsaemum*, *Hypericum hirsutum*, *Hypericum perforatum*. Asimismo, en la presente investigación, como se observa en la Tabla 4 el IC50 de los extractos hidroalcohólicos de hoja y flores de la especie vegetal *Hypericum silenoides* Juss tienen actividad antioxidante.

De la Figura 8, se puede deducir que los extractos hidroalcohólicos de la hoja y flor de la especie vegetal *Hypericum silenoides* Juss poseen mayor actividad antioxidante a diferencia de las partes de raíz y tallo que obtuvo un IC50 mayor; sin embargo, se observa que el IC50 del extracto hidroalcohólico del tallo aun tiene mayor actividad que el trolox, coincidiendo con Napoli <sup>(11)</sup> y Zdunic. <sup>(63)</sup>

De acuerdo a la investigación de Ganoza, <sup>(70)</sup> se determina los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante por lo cual, se deduce que la presencia de compuestos fenólicos en el extracto etanólico de la planta *Hypericum silenoides* Juss posiblemente se le atribuyo la actividad antioxidante.

Según la Tabla 8, el extracto hidroalcohólico de la hoja *Hypericum silenoides* Juss presenta actividad antibacteriana frente al *Cutibacterium acnes*. Esto puede guardar relación con respecto a la investigación de Corzo <sup>(79)</sup> que determina la actividad antibacteriana de la hoja *Hypericum mexicanum* L., en la fórmula magistral de jabón en presentaciones de sólido y líquido frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; el resultado evidencia que el jabón en presentación líquida del extracto de la hoja tiene actividad inhibitoria frente a los microorganismos estudiados. Igualmente, Plazas <sup>(6)</sup> investigó los extractos etanólicos de las hojas de *Hypericum mexicanum*, *Hypericum myricariifolium*, *Hypericum juni+perinum* demostraron actividad antibacteriana para ello

utilizaron las cepas *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* usando el método de inhibición del crecimiento a la gota; demostrando que tienen mayor actividad en las cepas gram-positivas. De ellos, se deduce que la familia *Hypericum* tiene actividad antibacteriana.

Bussmann <sup>(82)</sup> prueba el efecto antibacteriano de 512 extractos etanólicos y acuosos de plantas oriundas de Lambayeque - Perú frente al *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, usando el método de dilución en agar; el resultado fue que el extracto etanólico de la planta *Hypericum silenoides* Juss tiene actividad antibacteriana frente al *Staphylococcus aureus*; siendo este microorganismo contribuye a la formación del acné,<sup>(83)</sup> presentando un halo de inhibición de 13 mm; mientras que en nuestra investigación en la Tabla 8, Tabla 12, Tabla 16 y Tabla 20 se prueba la sensibilidad del extracto hidroalcohólico de la hoja, tallo, flores y raíz frente al *Cunibacterium acnes*, respectivamente; se tiene mayor actividad en el extracto hidroalcohólico de las hojas con 11,50 mm y el extracto hidroalcohólico de la flor con 12,80 mm en las diluciones de 250 mg/mL en ambos extractos. También, en la presente investigación, se puede evidenciar que en la Tabla 8, Tabla 12 y Tabla 16 se demuestra el efecto inhibitorio frente al *Cunibacterium acnes* en las diluciones 125 mg/mL y 250 mg/mL

Además, en la Tabla 11, Tabla 15, Tabla 19 y Tabla 24 se realizan comparaciones con clindamicina, doxiciclina, eritomicina y tetraciclina, y se concluye que la actividad antibacteriana frente al *Cunibacterium acnes* es inferior a las diferentes diluciones expuestas, ya que, para todos los casos, el p valor es menor a 0,05.

A partir de la Tabla 24, se puede deducir que el extracto hidroalcohólico de la flor de la especie vegetal *Hypericum silenoides* Juss presenta mayor actividad antibacteriana frente a *Cunibacterium acnes* que el resto de extractos hidroalcohólicos en la concentración de 250 mg/mL; sin embargo, el extracto hidroalcohólico de la hoja tiende a tener mayor actividad antibacteriana a mayor concentración, como se observa en la Figura 17; mientras que los valores menores corresponden al tallo. Según la

investigación de Modak, <sup>(84)</sup> se determina la actividad antibacteriana de 8 tipos de flavonoides; por lo cual, se deduce que la presencia de flavonoides en el extracto etanólico de la planta *Hypericum silenoides* Juss posiblemente se le atribuyo la actividad antibacteriana.

## 4.2. Conclusiones

- Se identificó por análisis fitoquímico cualitativo los metabolitos secundarios en los extractos hidroalcohólicos de las hojas, tallo, raíz y flores de *Hypericum silenoides* Juss, y se determinó que las 4 muestras presentan carbohidratos, aminoácidos, flavonoides, esteroides, lactonas sesquiterpénicas, cumarinas, compuestos fenólicos, taninos.
- Al realizar la evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, tallo, raíz y flores de *Hypericum silenoides* Juss, utilizando las concentraciones (250; 125; 62,5; 31,25 mg/mL), se determinó que existe inhibición desde la concentración 31,25 mg/mL en los extractos hidroalcohólicos del tallo, raíz y flores, excepto en el extracto hidroalcohólico de las hojas, donde su concentración mínima es 125 mg/mL.
- Al evaluar los extractos hidroalcohólicos de hoja, tallo, raíz y flor, a medida que aumenta la concentración, aumenta también el efecto inhibitorio, se puede observar que los extractos hidroalcohólicos de las hoja, tallo, raíz y flor en sus diferentes concentraciones, el p valor es menor a 0,05, lo cual indica que el efecto de estos cuatro extractos hidroalcohólicos es inferior a la clindamicina, doxiciclina, eritromicina y la tetraciclina.
- Al evaluar la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, tallo, raíz y flores de *Hypericum silenoides* Juss, por el método DPPH se obtuvo el mayor IC50 de 57,05 proveniente del extracto hidroalcohólico de las flores.

### 4.3. Recomendaciones

- Realizar análisis más específicos para determinar grupos funcionales u otros compuestos; para ello, se puede usar cromatografía líquida de alta performance (HPLC) o espectrofotometría infrarroja (IR).
- Realizar diferentes ensayos antioxidantes, como son el ABTS, FRAP y TEAC, con diferentes concentraciones para confirmar el efecto antioxidante de la especie vegetal.
- Realizar otros ensayos microbiológicos con diferentes solventes y concentraciones para confirmar el efecto bacteriano de la especie vegetal.
- Realizar pruebas de irritabilidad para comprobar la posibilidad del uso del *Hypericum silenoides* Juss en una forma tópica; además de elaboración de diferentes formas farmacéuticas y determinar la concentración efectiva de las diferentes formas.
- Desarrollar estudios *in vivo* para observar la estabilidad del extracto que pueden interferir en la actividad antimicrobiana como son los agentes físicos y químicos.

## CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Soria N, Ramos P. Uso de plantas medicinales en la atención primaria de salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso según eficaz. *Men. Inst. Investig. Cienc. Salud.* 2015; 13 (2): 8-17.
2. OMS, Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023: Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la salud; 2013. Disponible en: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098\\_spa.pdf;jsessionid=4CBFA008C7C9D4C442944073F279E2A3?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf;jsessionid=4CBFA008C7C9D4C442944073F279E2A3?sequence=1)
3. Mejía J, Carrasco E, Miguel J, Flores S. Conocimiento, aceptación y uso de medicina tradicional peruana y de medicina alternativa/ complementaria en usuarios de consulta externa en Lima Metropolitana. *Rev Peru Med Integrativa.* 2017; 2 (1): 47-57.
4. Dagnino A, de Barros F, Ccana G, Prophiro J, von Poser G, Romão P. Leishmanicidal activity of lipophilic extracts of some *Hypericum* species. *Phytomedicine.* 2015; 22 (1): 71-76.
5. Ccana G, Kaiser S, Danielli L, Dresch R, D'Avila F, Fröhlich P, et al. Acylphloroglucinol profile and antichemotactic activity of lipophilic extracts from Peruvian *Hypericum* species. *Industrial Crops & Products.* 2018; 125: 323-327.
6. Plazas E. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana in vitro de extractos y fracciones de tres especies colombianas del género *Hypericum*. *Rev Cuba Plantas Med.* 2017; 22(1): 1-14.
7. López J, Herranz P, Dréno B. Consenso español para establecer una clasificación y un algoritmo de tratamiento del acné. *Actas Dermosifiliogr.* 2017; 108(2): 120-131.
8. Agüero F, Samudio M. Características clínicas y epidemiológicas de pacientes que consultan por acné. *Mem Inst Investig Cienc. Salud.* 2015; 13(1): 7-16.
9. Guerra A, de Lucas R, Moreno J, Pérez M, Ribera M, Martínez E, et al. Consenso en el tratamiento tópico del acné. *Med Cutan Iber Lat Am.* 2015; 43 (2): 104-121.

10. Cabrera Y, Fadragas A, Guerrero L. Antibióticos naturales. Mito o realidad. Rev cubana Med Gen Integra [internet] 2005 [acceso 9 octubre 2019]; 21 (3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21252005000300025](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252005000300025)
11. Napoli E, Siracusa L, Ruberto G, Carrubba A, Lazzara S, Speciale A, et al. Phytochemical profiles, phototoxic and antioxidant properties of eleven Hypericum species - A comparative study. 2018; 152: 162-173.
12. Mamani R, Mejia T. Estrés oxidativo celular y diabetes por alimentos refinados tipo snack. Rev Med. 2018; 15-21.
13. Grange P, Raingeaud J, Morelle W, Marcelin A, Calvez V, Dupin N. Characterization of a Propionibacterium acnes Surface Protein as a Fibrinogen-Binding Protein. Scientific Reports. 2017; 7(1): 1-14.
14. García J, García E, García M. Estudios de sensibilidad en bacterias anaerobia. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2014; 32 (1): 23-29.
15. Gaviria A, Correa C, Mosquera O, Niño J, Correa Y. Evaluación de las actividades antioxidante y antitopoisomerasa de extracto de plantas de la ecorregión cafetera colombiana. Rev Facultad Ciencias Básicas. 2015; 11(1): 86-101.
16. Cardona J, Álvarez M, Martínez D, Cruz A, Vallejo M, Prevalencia de acné en estudiantes de octavo a undécimo grado de El Retiro-Antioquia y percepciones asociadas. iMedPub Journals. 2014; 10(1): 1-11.
17. Quintero Y, Asuaje L, Franco F, Roye R. Propionibacterium acnes. pasado, presente y futuro. Dermatol Venez. 2015; 53(2): 9-17.
18. Alvarez M, Rodriguez E, Ponce R, Tirado A, Arellano M. Bacterial resistance in acne? A meta-analysis of the controversy. Cirugía y Cirujanos. 2016; 84: 190-195.
19. Neves J, Francesconi F, Costa A, de Medeiros B, Follador I, Costa L, Propionibacterium acnes e a resistência bacteriana. Surg Cosmet Dermatol. 2015; 7 (3): 27-38.
20. Gallegos M. Las plantas medicinales; principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An Fac med. 2016; 77(4): 327-332.

21. Kim S, Oh S, Byul H, Ji A, Ji S, Hee S, et al. In vitro antioxidant and anti-Propionibacterium acnes activities of cold water, hot water, and methanol extracts, and their respective ethyl acetate fractions, from *Sanguisorba officinalis* L. Roots. *Molecules*. 2018; 23 (11): 1-17.
22. Ledón L. Enfermedades crónicas y vida cotidiana. *Rev Cubana de Salud Pública*. 2011; 37 (4): 488-499.
23. Coronado M, Vega S, Gutiérrez R, Vázquez M, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Rev. Chil. Nutr.* 2015; 42(2): 206-212.
24. Orozco B, Velásquez M, Meléndez E, Pabón J, Motta A, Anaya L, et al. Vías inflamatorias en la fisiopatología del acné. *Rev Asoc Colomb Dermatol*. 2013; 21(4): 339-359.
25. Gutiérrez R, Reyes C, Matínez J, Adrian J, Lazalde B. Estrés oxidativo: Promotor de enfermedades. *Rev Electr Sem Ciencias de la Salud*. 2018; 9 (1): 1-9.
26. Navarro I, Periago M, García F. Estimación de la capacidad antioxidante de los alimentos ingeridos por la población española. *Rev Chil Nutr*. 2017; 44 (2): 183-188.
27. Stevens P. *The Families and Genera of Vascular Plants* [Internet] 1 ed. Heidelberg (DE): Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2007. Hypericaceae; [acceso 9 octubre 2019]: p 194-201. Disponible en: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-32219-1\\_24#citeas](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-32219-1_24#citeas)
28. Brako L, Zarucchi J. *Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of Peru*. *Monogr Syst Bot Missouri Bot Gard*. 1993; 45: 353-359.
29. Robson N. Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae). *Bull nat Hist Mus Lond (Bot.)*. 2002; 32(2): 61-123.
30. Robson N. Studies in the genus *Hypericum* L. (Hypericaceae). *Phytotaxa* 2012; 72: 1-111.
31. Rodríguez C. *Flora del bajío y de regiones adyacentes*. 13va ed. Patzacuaro: Instituto de Ecología; 1996. *Hypericum* L; 9-26.
32. Pérez W. *Evaluación etnobotánica medicinal de la comunidad de Buenos Aires, Jaén, Cajamarca - Perú* [Tesis para optar el título profesional de

- ingeniero forestal]. [Jáen (CJA)]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2017. 122 p.
33. Bussman R, Sharon D. Plantas medicinales de los andes y la amazonia la flora mágica y medicinal del norte del Perú. 1er ed. Trujillo: Graficart; 2015. 150p.
  34. Corzo D, Gaitán D. Evaluación de la efectividad de distintas formulaciones de jabón con extracto de *Hypericum mexicanum* L. Rev Investigación agraria y ambiental [Internet]. 2017 [acceso 9 octubre 2019]; 8 (1). Disponible en: <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/1844/2063>
  35. Nasri H, Bahmani M, Shahinfard N, Nafchi A, Saberianpour S, Kopaei M. Medicinal Plants for the treatment of acné vulgaris: A review of recent evidences. Jundishapur J Microbiol. 2015; 8(11): 1-9.
  36. Bussmann R, Glen A, Meyer K, Rothrock A, Townesmith A. Phytp-chemical analysis of peruvian medicinal plants. Arnaldoa. 2009; 16 (1): 105-110.
  37. García L, Galvan Y, Caballero S, Zamudio S, Alfaro A, Navarrete A. *Hypericum silenoides* Juss and *Hypericum philonotis* Cham. & Schlecht. extracts: in-vivo hypolipidaemic and weight-reducing effects in obese rats. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2013; 65 (4): 591-603.
  38. García L, Caballero S, Zamudio S, Duarte G, Navarrete A. Essential oil composition of aerial parts of *Hypericum silenoides* Juss and *Hypericum philonotis* Cham. & shlecht. Growing in central mexico. TEOP. 2013; 16 (4): 456-460.
  39. Ccana G. Cribado de actividad antidepresiva en la prueba de natación forzada y toxicidad aguda en ratones Balb/CNPS de los extractos secos etanólicos de las partes aéreas en floración del *Hypericum andinum*, *Hypericum brevistylum*, *Hypericum laricifolium* e *Hypericum silenoides*. [Tesis para optar el título profesional de farmacia y bioquímica]. [Cusco]: Universidad nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2011. 154p.
  40. Gallego M. Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles. [Tesis doctoral de ingeniería de procesos químicos]. [Barcelona]: Universidad Politècnica de Catalunya; 2016. 256p.
  41. Zamora J. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. Rev Chil Nutr [Internet]. 2007 [acceso 9 octubre 2019]; 34 (1). Disponible en:

[https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182007000100002](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100002)

42. Vallejo E, Rojas A, Torres O. Una poderosa herramienta en la medicina preventiva del cáncer: los antioxidantes. *El Residente*. 2017; 12(3): 104-111.
43. Inocente M. Actividad antioxidante y antimicrobiana de los compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Triplaris americana* L. (Tangarana colorada). [Tesis para optar título profesional de químico farmacéutico]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2009. 126p.
44. Abrigo Y, Goyes N. Evaluación de la actividad antibacteriana y antioxidante de los extractos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*. [Tesis para optar grado de químico y farmacéutico]. [Guayaquil]: Universidad de Guayaquil; 2019. 110p.
45. Barrera A. Evaluación de la actividad antioxidante de extracto de cuatro frutos de interés comercial en Colombia y actividad citotóxica *In vitro* en la línea celular de fibrosarcoma HT1080. [Tesis optar título profesional de biología]. [Bogotá]: Pontificia Universidad Javeriana; 2011. 49p.
46. Sánchez V, Méndez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Rev Invest Med SUR Mex*. 2013; 20(3): 161-168.
47. Weinstein M, Patel J, Bobenchik A, Campeau S, Cullen S, Galas M, et al. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 29<sup>eva</sup> ed. Pennsylvania: Clinical and Laboratory standards institute; 2018. 25 pag.
48. Mollerup S, Friis J, Vinner L, Hansen T, Richter S, Fridholm H, et al. *Propionibacterium acnes*: Disease-Causing Agent or Common Contaminant? Detection in diverse patient samples by next generation sequencing. *Journal of clinical microbiology*. 2016; 54(4): 980-987.
49. Nazipi S, Stodkilde K, Scavenius C y Brüggemann H. The skin bacterium *Propionibacterium acnes* employs two variants of hyaluronate lyase with distinct properties. *Microorganisms*. 2017; 5 (57): 1-16.
50. Brzuszkiewicz E, Weiner J, Wollherr A, Thürmer A, Hüpeden J, Lomholt H, et al. Comparative genomics and transcriptomics of *Propionibacterium acnes*. *PLoS one*. 2011; 6 (6): e21581

51. Velásquez D, Pineda C, Cardona M, Gómez N, Gartz G, Úsuga I, et al. Soluciones terapéuticas para la reconstrucción de la dermis y la epidermis. Oportunidades en el medio antioqueño. *Rev Ing Biomed*. 2008; 2(3): 77-83.
52. Buendía A, Mazuecos J, Camacho F. Manual de Dermatología [Internet]. 2da ed. Grupo aula médica; 2018. Capítulo 1, Anatomía y fisiología de la piel; [acceso 9 octubre 2019]. Disponible en: [https://www.academia.edu/38963331/ANATOM%C3%8DA\\_Y\\_FISIOLOG%C3%8DA\\_DE\\_LA\\_PIEL](https://www.academia.edu/38963331/ANATOM%C3%8DA_Y_FISIOLOG%C3%8DA_DE_LA_PIEL).
53. Sánchez I, Quesada A, Cadeño M. Lesiones elementales en dermatología. *Rev med costa rica y centroamérica*. 2015; 67 (594): 345-348.
54. Saettone A. Dermatología peruana revista ofocoal de la sociedad peruana de dermatología. *Dermatología peruana*. 2006; 16 (3): 188-269.
55. Thiboutot C, Dréno B, Abanmi A, Alexis A, Araviiskaia E, et al. Practical management of acne for clinicians: An international consensus from the global alliance to improve outcomes in acne. *J Am Acad Dermatol*. 2018; 78: 1- 62
56. Bakus A, Yaghmai D, Massa A, Garden B, Garden J. Sustained benefit after treatment of acne vulgaris using only a novel combination of long-pulsed and q-switched 1064-nm Nd: YAG Lasers. *Wolters Kluwe Health*. 2018: 1- 9.
57. Kaminsky A. Acné: Un enfoque global. 1er ed. Colegio Ibero-Latinamericano de Dermatología. Buenos Aires: Colegio Ibero latinoamericano de dermatología; 2007. 199p.
58. Maza G, Liquidano E, Saéz M, Orozco L. Acné juvenil, tratamiento por el pediatra. ¿Cuándo enviar al especialista?. *Acta Pediatr Mex*. 2018; 39(5): 307-313.
59. Meza K, Vargas G. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus* (DC) STAPF), poaceae en una formulación cosmética con finalidad antiacnéica. [Tesis optar título profesional de ingeniero en biotecnología de los recursos naturales]. [Quito]: Universidad Politécnica salesiana sede Quito; 2013. 147p.
60. Ministerio de salud pública de Ecuador. Diagnóstico y tratamiento del acné. 1er ed. Quito: Dirección nacional de normatización; 2015. 65p.

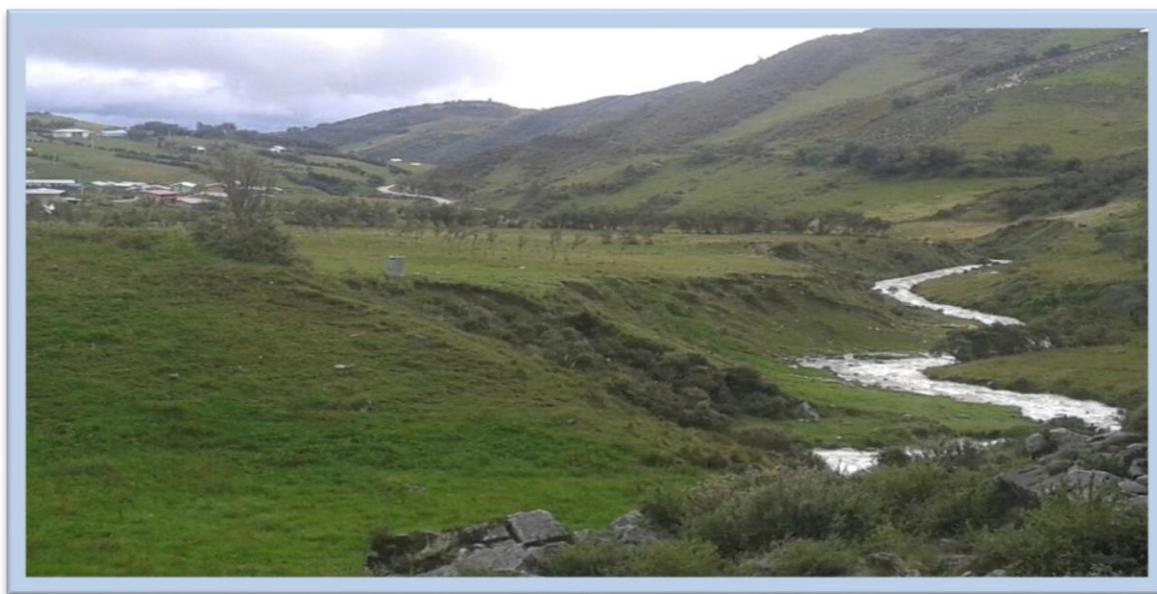
61. Pozo T. Protocolo del acné. *Adolescere*. Revista de formación continuada de la sociedad española de medicina de la adolescencia. 2014; 2 (3): 30-36.
62. Bagatin E, Arias M, Florez M, Kaminsky A. Algorithm for acne treatment: Ibero-Latin American consensus. *An Bras Dermatol*. 2017; 92(5): 689-693.
63. Zdunic G, Godjevac D, Savikin K, Petrovic S. Comparative Analysis of Phenolic Compounds in Seven *Hypericum* Species and Their Antioxidant Properties. *Natural product communications*. 2017; 12 (11): 1805-1811.
64. Wölfle U, Seelinger G, Schempp C. Topical Application of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Med*. 2014; 80: 109-120.
65. Huaranca L. Determinación de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss, frente a cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* y *Thichophyton rubrum*, y evaluación de la toxicidad dérmica en animales de experimentación. [Tesis optar título profesional de químico farmacéutico]. [Cusco]: Universidad Nacional de San Antonio Abab del Cusco; 2019.
66. Sánchez R. Actividad antidepresiva y determinación por HPLC de los principales componentes del extracto ciclohexánico de las partes aéreas de *Hypericum silenoides* Juss. [Tesis optar título grado de magister en ciencias, mención química especialidad productos naturales]. [Cusco]: Universidad Nacional de San Antonio Abab del Cusco; 2018.
67. Abadie R, Medina R. Actividad antibacteriana de extractos vegetales sobre cepas aisladas del hardware de computadoras del hospital César Garayarquitos. [Tesis optar título profesional de biólogo]. [Iquitos]: Universidad nacional de la amazonía peruana; 2014. 117p.
68. Torres F. Comunidades de los páramos del norte peruano y su conocimiento etnobotánico para la innovación. 1er ed. Huaraz: Instituto de Montaña; 2015: 119p.
69. Tamariz C, Olivera P, Santillán M. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical assessment of wild medicinal plants from cordillera Blanca (Ancash, Peru). *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*. 2018; 17(3): 270-285.

70. Ganoza M, Cotilla N, Velásquez S, Polo M. Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de extractos de especies vegetales de Cachicadán, La Libertad-Perú. *Rev Perspectiva*. 2015; 26(18): 203-208.
71. Rodríguez O, Roa V, Palacios E. Actividad antibacteriana y antioxidante de *Baccharis revoluta* Kunth. *NOVA*. 2016; 13(25): 57-65.
72. García J, Reding A, López J. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Inv Ed Med*. 2013; 2(8): 217-224.
73. Martínez I, Quintero G, Márquez L, González J, Álvarez A, Zarragoitía A. Determinación de la citotoxicidad de extractos de *Erythroxylum confusum* Britt. mediante el método de la artemia salina. *Acta Farm Bonaerense*. 2006; 25 (3): 429-431.
74. Juro S, Flores V, Mendoza Y, del Carpio C. Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels “nogal” en ratones albinos. *Folia dermatol Peru*. 2010; 21(1): 19-24.
75. Lock O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Perú: PUCP; 1994. 299 pag.
76. Kuklinski C. Farmacognosia. 1da ed. Barcelona: ediciones Omega; 2000. 515p.
77. Velázquez Y, Quiñones R, Coy E. Chemical profiling combined with multivariate analysis of unfractionated kernel-derived extracts of maize (*Zea mays* L.) landraces from central Colombia. *Emir J Food Agric*. 2016; 28(10): 713-724.
78. Rodríguez Y, Espinoza S, Vergara M. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. “Romero” sobre el crecimiento *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Salud & Vida Sipanense*. 2014; 1 (2): 63 - 74.
79. Corzo D. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. *Rev Mex Cienc Farm*. 2012; 43(3): 81-86.
80. Código de ética para la investigación [Internet] Lima: Universidad Privada Nibert Winer. 2019 [citado 1 de diciembre del 2019]. Disponible en: <https://intranet.uwiener.edu.pe/univwiener/transparencia/presentacion.asp>
81. Villa A, Carretero M. Hipérico. *Farmacia profesional*. 2003; 17(5): 76-80.

82. Bussmann R, Glenn A, Sharon D. Antibacterial activity of medicinal plants of northern Peru- can traditional application provide leads for modern science? Indian Journal of traditional knowledge. 2010; 9 (4): 742-753.
83. Khorvash F, Abdi F, Kashani H, Naeini F, Narimani T. Staphylococcus aureus in acne pathogenesis: A case-control study. North American Journal of Medical Sciences. 2012; 4(1): 573-577.
84. Modak B. Arrieta A. Torres R. Urzua A. Actividad antibacteriana de flavonoides aislados del exudado resinoso de *Heliotropium sinuatum*: efecto del tipo de estructura. Bol Sol Chil Quím. 2002; 47 (1): 19-23.

## **ANEXOS**

**Anexo A:** Caserío Huasmín, Provincia de Celendín, Departamento de Cajamarca.



Lugar donde se recolecto la especie vegetal *Hypericum silenoides* Juss  
“Canchalagua”, Caserío Huasmín.

**Anexo B:** Constancia botánico *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” del Herbario del Departamento de Biología de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

 UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
Departamento Académico de Biología  
"AÑO DEL BUEN SERVICIO AL CIUDADANO"

La Molina, 28 de junio de 2017

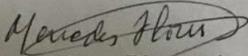
**CONSTANCIA**  
011-2017-HM-UNALM

Mediante la presente se informa que la muestra de “Canchalagua”, procedente del Distrito de Huasmín, Provincia de Celendín, Departamento de Cajamarca, remitida por las Srts. Yesenia Edith Ortiz Arévalo y Jhulissa Rosana Salinas Quispe ha sido estudiada en el Herbario del Dpto. de Biología (MOL) de la Universidad Nacional Agraria La Molina para su determinación taxonómica. El examen y reconocimiento de los caracteres morfológicos de orden cualitativo y cuantitativo en dicho espécimen permiten concluir que los mismos corresponden a la especie *Hypericum silenoides* Juss.

La sistemática de las especies según el sistema de clasificación de APG III (Angiosperm Phylogeny Group III, 2009) es la siguiente:

Clado	:	angiospermas (Angiospermae)
Clado	:	mesangiospermas (Mesangiospermae)
Clado	:	eudicotiledóneas (Eudicotyledoneae)
Clado	:	gunnéridas (Gunneridae)
Clado	:	pentapétalas (Pentapetalae)
Clado	:	rósidas
Clado	:	fábridas
Orden	:	Malpighiales
Familia	:	Hypericaceae
Género	:	<b><i>Hypericum</i> L.</b>
Especie	:	<b><i>Hypericum silenoides</i> Juss.</b>

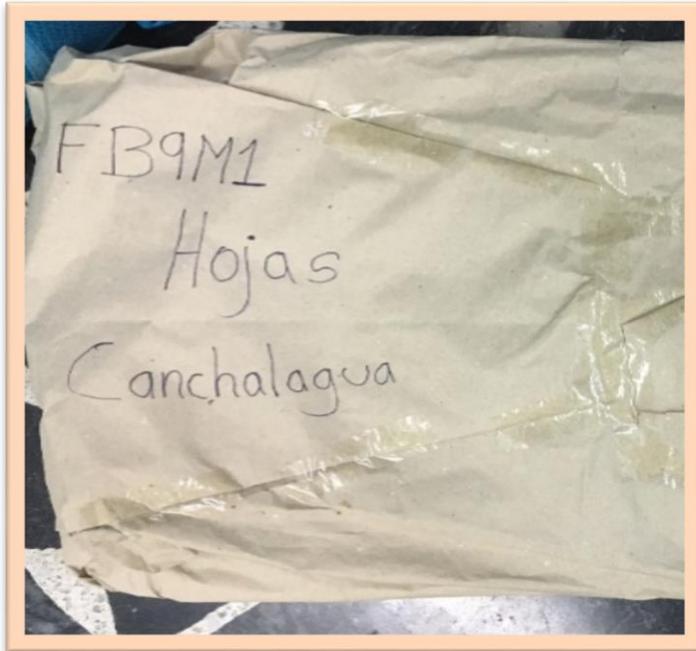
Atentamente,

  
**Mercedes Flores Pimentel**  
Jefe  
Herbario del Dpto. de Biología (MOL)  
Facultad de Ciencias  
Universidad Nacional Agraria La Molina

  
**Arturo Granda Paucar**  
Investigador Adjunto  
Herbario del Dpto. de Biología (MOL)  
Facultad de Ciencias  
Universidad Nacional Agraria La Molina

Av. La Molina s/n La Molina – Lima – Perú Telf: 349 6015 / 614 7800 anexo 271  
fciencias@lamolina.edu.pe dptobiologia@lamolina.edu.pe

**Anexo C:** Secado de la especie vegetal recolectada *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” en el Centro de Investigación farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener.



Se envolvieron con papel Kraft las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” respectivamente.

Se llevo a la estufa las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua” para secar a la temperatura 40 °C.

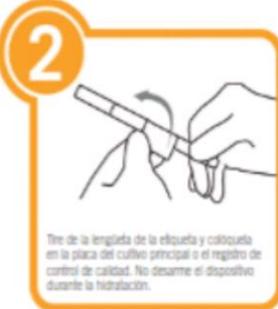


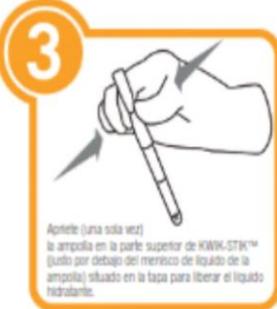
## Anexo D: Preparación e incubación de la cepa *Cutibacterium acnes*.

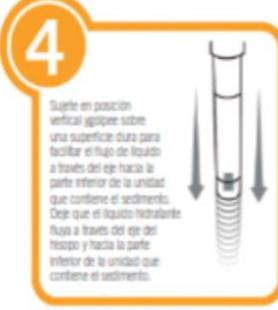


**INSTRUCCIONES ILUSTRADAS**

- 

**1** Deje la bolsa sin abrir de KWIK-STIK™ para que se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa por la muesca y retire la unidad de KWIK-STIK™.
- 

**2** Tire de la lengüeta de la etiqueta y colóquela en la placa del cultivo principal o el registro de control de calidad. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
- 

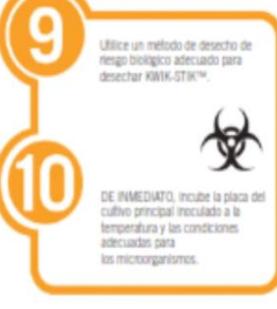
**3** Apriete (una sola vez) la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK™ (justo por debajo del menisco de líquido de la ampolla) situado en la tapa para liberar el líquido hidratante.
- 

**4** Sujete en posición vertical y apriete sobre una superficie dura para facilitar el flujo de líquido a través del eje hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento. Deje que el líquido hidratante fluya a través del eje del hisopo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento.
- 

**5** Apretando en la parte inferior de la unidad, frícture el sedimento en el líquido hasta que la suspensión del sedimento sea homogénea.
- 

**6** DE INMEDIATO, sature bien el hisopo en el material hidratado y transfiera a un medio de cultivo con agar.
- 

**7** Inocule la placa del cultivo principal haciendo rotar el hisopo con suavidad sobre un tercio de la placa.
- 

**8** Con un asa estéril, cree velas para facilitar el aislamiento de colonias.
- 

**9** Utilice un método de desecho de riesgo biológico adecuado para desechar KWIK-STIK™.
- 

**10** DE INMEDIATO, incube la placa del cultivo principal inoculada a la temperatura y las condiciones adecuadas para los microorganismos.



A safer, healthier world.

LIT.2145.SPAN.LA Rev A Español Página 1 de 1

**Anexo E:** Preparación e incubación de las cepas y placas con medio de cultivo agar Brucella suplementado con sangre de carnero.



Se preparo el medio de cultivo agar Brucella suplementado

Se dejo enfriar el agar Brucella suplementado en las placas Petri.



Se coloco los discos de los extractos hidroalcolicos, grupo control positivo y negativo en cada placa respectivamente

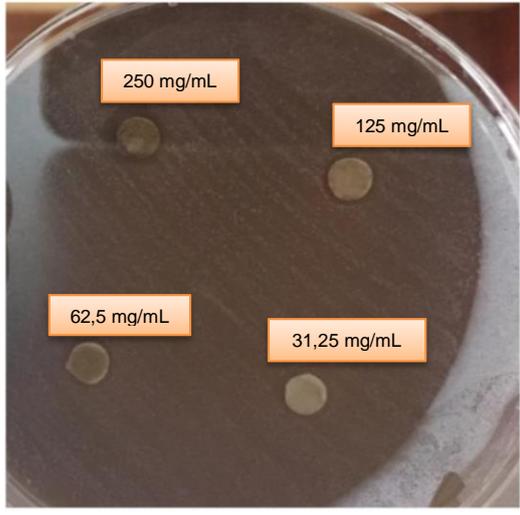
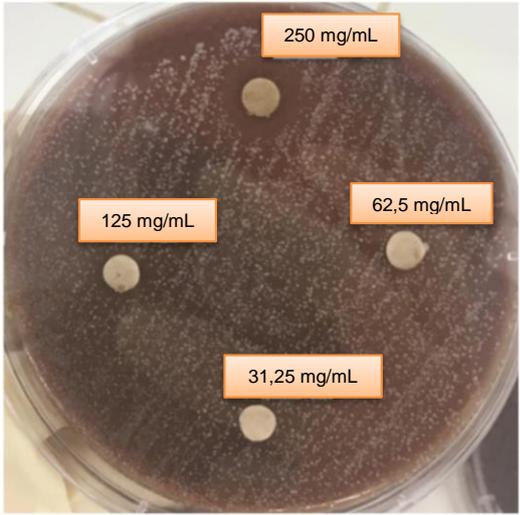
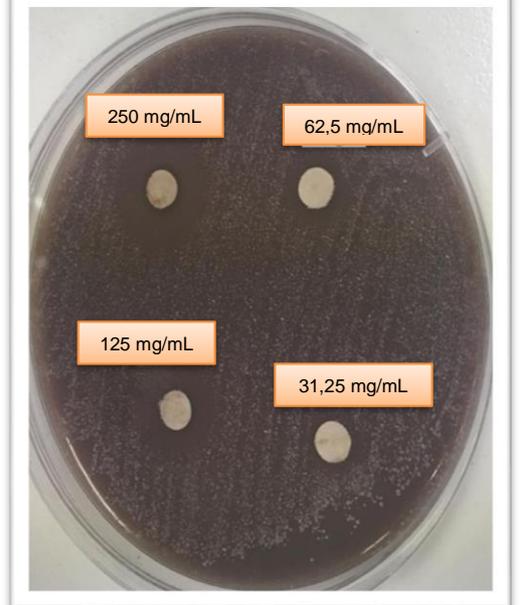
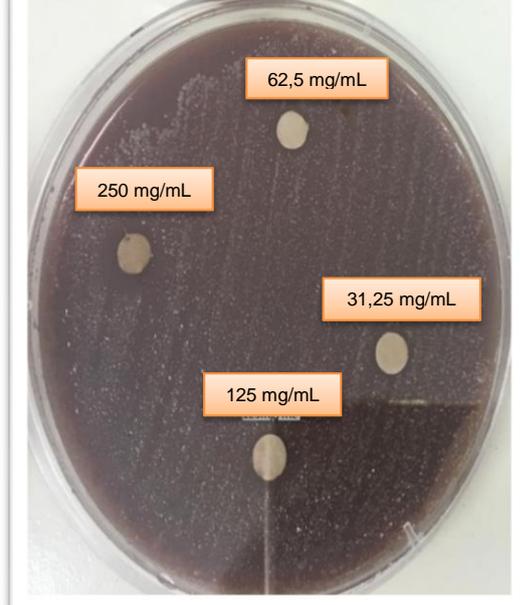


Se inoculo la cepa *Cutibacterium acnes* en el agar Brucella suplementado.

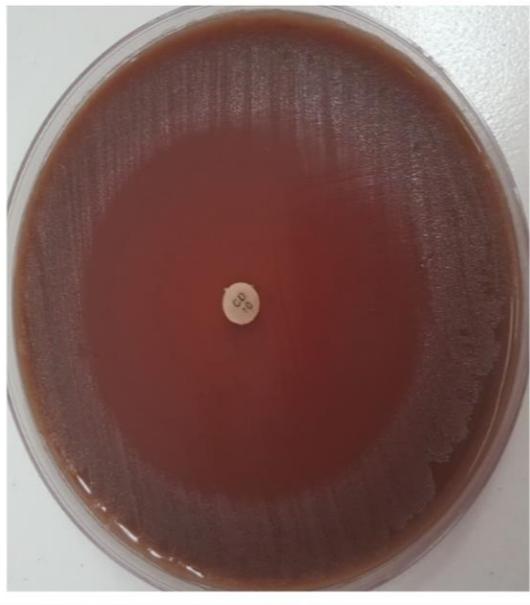
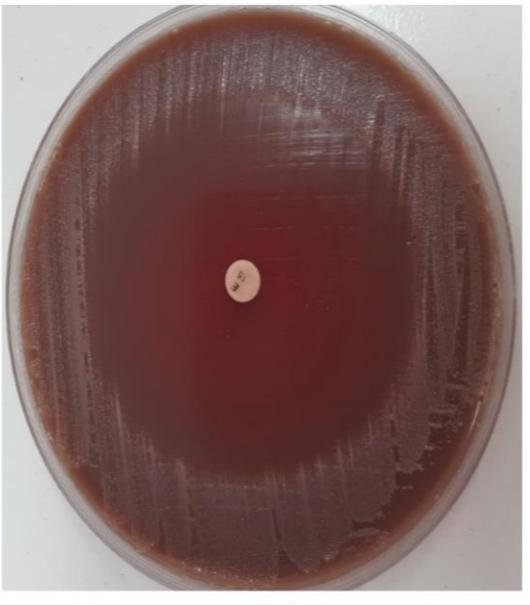
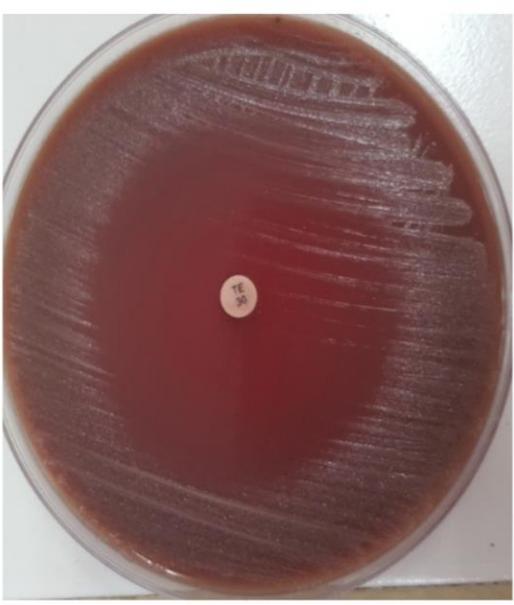


Se incubó por 2 dias a temperatura ambiente en una jarra de anerobiosis.

**Anexo F:** Estudio microbiológico de *Cutibacterium acnes* con las muestras de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.

Placas de Agar brucella, hemina, vitamina k1 y sangre con discos impregnados con extracto de <i>Hypericum silenoides</i> Juss en condiciones anaerobias	
Tallo	Hoja
	
Flor	Raíz
	

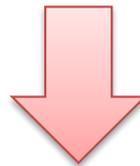
**Anexo G:** Estudio microbiológico de *Cutibacterium acnes* con las muestras de discos de sensibilidad.

<b>Placas de Agar brucella, hemina, vitamina k1 y sangre con discos con antibióticos estándar</b>	
<b>Clindamicina</b>	<b>Doxiciclina</b>
	
<b>Eritomicina</b>	<b>Tetraciclina</b>
	

**Anexo H:** Determinación de la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua”.



Los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz del *Hypericum silenoides* Juss y el grupo control (trolox) con el reactivo DPPH, después de haber transcurrido 30 minutos.



Lecturas de absorbancia de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz del *Hypericum silenoides* Juss y del grupo control positivo (trolox).

**Anexo I:** Instrumentos de recolecion de datos del estudio microbiológico.

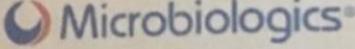
Muestras estudiadas	Diluciones mg/mL	Diámetro de halos de inhibición en mm									
		N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	N° 6	N° 7	N° 8	N° 9	N° 10
Extracto hidroalcohólico de las hojas	31,25										
	62,5										
	125										
	250										
Extracto hidroalcohólico de las flores	31,25										
	62,5										
	125										
	250										
Extracto hidroalcohólico del tallo	31,25										
	62,5										
	125										
	250										
Extracto hidroalcohólico de raíz	31,25										
	62,5										
	125										
	250										

Muestras grupo control	Diámetro de halos de inhibición en mm									
	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	N° 6	N° 7	N° 8	N° 9	N° 10
Agua destilada										
Clindamicina										
Doxiciclina										
Eritromicina										
Tetraciclina										

**Anexo J:** Instrumentos de recolecion de datos del estudio antioxidante

Muestras	Diluciones μg/mL	Absorbancias		
		N° 1	N° 2	N° 3
Extracto hidroalcohólico de las hojas	100			
	50			
	25			
	12,5			
	6,25			
Extracto hidroalcohólico de las flores	100			
	50			
	25			
	12,5			
	6,25			
Extracto hidroalcohólico del tallo	100			
	50			
	25			
	12,5			
	6,25			
Extracto hidroalcohólico de raíz	100			
	50			
	25			
	12,5			
	6,25			
Trolox	100			
	50			
	25			
	12,5			
	6,25			

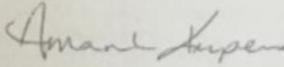
**Anexo K: Certificado de análisis de la cepa *Cutibacterium acnes* ATCC 6919.**



*Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release*

<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Cutibacterium acnes</i> Catalog Number: 0170 Lot Number: 170-21** Reference Number: ATCC® 6919™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/5/31 <b>Release Information:</b> Quality Control Technologist: Tracy A Blenker Release Date: 2018/6/25
--	---

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Punctiform to small, circular, convex, entire edge, glistening, becoming larger as colonies age <b>Microscopic Features:</b> Small gram positive rods	<b>Medium:</b> A/R SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System: MALDI-TOF (1)</b> See attached ID System results document.	

  
 Amanda Kuperus  
 Quality Control Manager  
 AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.  
 Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.  
 ⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.  
 Individual products are traceable to a recognized culture collection.

  
 ACCREDITED  
 REFERENCE MATERIAL PRODUCER  
 CERT #2555.02

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

  
 ACCREDITED  
 TESTING CERT #2655.01

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

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303

Page 1 of 1

DOC.286

**Anexo L:** Certificados de análisis de los discos de sensibilidad de doxiciclina, clindamicina, eritromicina y tetraciclina.

## Liofilchem® Certificate of Analysis

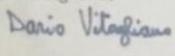
Page 1 of 1

<b>Product</b>	<b>Batch</b>	<b>Expiration date</b>
Doxycycline DXT 30 µg	110718028	2021.11.06
<b>Ref.</b>	<b>Initial</b>	
9059 - 9059/1	DXT	

**Antimicrobial Susceptibility Testing**  
Tested according to current CLSI methodology

Control strains	Medium	Inoculum	Incubation	Expected Results Zone range (mm)	Results Zone (mm)
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Mueller Hinton II Agar	0.5 McFarland in saline	35 ± 2°C, ambient 16-18 h	18-24	19
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Mueller Hinton II Agar	0.5 McFarland in saline	35 ± 2°C, ambient 16-18 h	23-29	27
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Mueller Hinton II Agar (Sheep blood 5%)	0.5 McFarland in broth	35 ± 2°C, 5% CO <sub>2</sub> 20-24 h	25-34	27

**Batch Release**

Approved		<b>Signature</b>	<b>Quality Control</b>
Date	13.11.2018		(D. Vitagliano)
The results reported were obtained at the time of release.			
			

©Liofilchem® s.r.l. Via Scozia - Zona Industriale 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) Italy - Tel +39 0858930745 - Fax +39 0858930330  
CoA Ref. 9059 - 9059/1 Rev. 8 of 16.07.2014

# Liofilchem® Certificate of Analysis

Page 1 of 1

Product	Batch	Expiration date
Clindamycin CD 10 µg	111318081	2021.11.12

Ref.
9146 - 9146/1

**Antimicrobial Susceptibility Testing**  
Tested according to current CLSI methodology

Control strains	Medium	Inoculum	Incubation	Results Zone (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Mueller Hinton II Agar	0.5 McFarland	35 ± 1°C, ambient 16-18 h	26
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Mueller Hinton II Agar with 5% Sheep Blood	0.5 McFarland	35 ± 1°C, 5% CO <sub>2</sub> 20-24 h	28

**Batch Release**

Approved Date	Signature	Quality Control (D. Vitagliano)
16.11.2018		

The results reported were obtained at the time of release.

*Dario Vitagliano*

# Liofilchem® Certificate of Analysis

Page 1 of 1

Product	Batch	Expiration date
Erythromycin E 15 µg	102418165	2021.10.23

**Ref.**

9024 - 9024/1

**Antimicrobial Susceptibility Testing**

Tested according to current CLSI and/or EUCAST methodology

Control strains	Medium	Inoculum	Incubation	Expected Results Zone range (mm)	Results Zone (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Mueller Hinton II Agar	0.5 McFarland	35 ± 1°C, ambient 16-18 h	22-30	30
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213	Mueller Hinton II Agar	0.5 McFarland	35 ± 1°C, ambient 16-18 h	23-29*	29
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Mueller Hinton II Agar with 5% Sheep Blood	0.5 McFarland	35 ± 1°C, 5% CO <sub>2</sub> 20-24 h	25-30	30
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Mueller Hinton Fastidious Agar	0.5 McFarland	35 ± 1°C, 5% CO <sub>2</sub> 16-20 h	26-32*	30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 49766	Mueller Hinton Fastidious Agar	0.5 McFarland	35 ± 1°C, 5% CO <sub>2</sub> 16-20 h	10-16*	11
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC® 33560	Mueller Hinton Fastidious Agar	0.5 McFarland	41 ± 1°C microaerobic 24 h	27-35*	29

\*Established and validated by EUCAST

**Batch Release**

Approved

Date

29.10.2018

Signature

Quality Control  
(D. Vitagliano)

*Dario Vitagliano*

The results reported were obtained at the time of release.

# Liofilchem® Certificate of Analysis

Page 1 of 1

<b>Product</b>	<b>Batch</b>	<b>Expiration date</b>
Tetracycline TE 30 µg	072718066	2021.07.26

**Ref.**

9043 – 9043/1

**Antimicrobial Susceptibility Testing**  
Tested according to current CLSI and/or EUCAST methodology

Control strains	Medium	Inoculum	Incubation	Expected Results Zone range (mm)	Results Zone (mm)
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Mueller Hinton II Agar	0.5 McFarland	35 ± 1°C, ambient 16-18 h	18-25	23
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Mueller Hinton II Agar	0.5 McFarland	35 ± 1°C, ambient 16-18 h	24-30	27
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213	Mueller Hinton II Agar	0.5 McFarland	35 ± 1°C, ambient 16-18 h	23-31*	26
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 49247	Haemophilus Test Medium	0.5 McFarland	35 ± 1°C, 5% CO <sub>2</sub> 16-18 h	14-22	16
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Mueller Hinton II Agar with 5% Sheep Blood	0.5 McFarland	35 ± 1°C, 5% CO <sub>2</sub> 20-24 h	27-31	30
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Mueller Hinton Fastidious Agar	0.5 McFarland	35 ± 1°C, 5% CO <sub>2</sub> 16-20 h	28-34*	30
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC® 49226	GC Agar Base with 1% Defined Growth Suppl.	0.5 McFarland	36 ± 1°C, 5% CO <sub>2</sub> 20-24 h	30-42	40
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 49766	Mueller Hinton Fastidious Agar	0.5 McFarland	35 ± 1°C, 5% CO <sub>2</sub> 16-20 h	28-34*	29
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC® 33560	Mueller Hinton Fastidious Agar	0.5 McFarland	41 ± 1°C microaerobic 24 h	30-38*	36

\*Established and validated by EUCAST

**Batch Release**

Approved

Date

08.08.2018

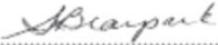
Signature

Quality Control  
(D. Vitagliano)

*Dario Vitagliano*

The results reported were obtained at the time of release.

**Anexo M: Certificado de aseguramiento de calidad del Agar Brucella.**

QC12		Page 1 of 1
<b>Quality Assurance Certificate</b>		
<b>Code:</b>	CM0169B	
<b>Product:</b>	BRUCELLA MEDIUM BASE	500g
<b>Lot:</b>	2390773	
<b>Expiry:</b>	30.09.2023	
<b>Components:</b>		
<b>PHYSICAL CHARACTERISTICS:</b>	As appropriate tests on moisture, appearance, pH, clarity and gel strength were satisfactory.	
<b>BIOLOGICAL PERFORMANCE:</b>	Satisfactory performance of:	
Bordetella bronchiseptica	ATCC 4617	
Pseudomonas aeruginosa	ATCC27853	
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	
Escherichia coli	ATCC 25922	
Candida albicans	ATCC 10231	
Brucella abortus Biotype 2:- a well characterised isolate of Brucella		
Streptococcus pneumoniae	ATCC 6303	
Listeria monocytogenes	ATCC 13932	
<b>Date:</b>	03 June 2019	
<p>The above have been tested in our Quality Control Laboratory using conventional procedures and control ATCC and NCTC cultures where appropriate and have met the specified test parameters. Additional challenging strains may also be employed.</p> <p>The information given is believed to be correct, all results reported in this certificate relate only to the product and lot stated in this certificate of analysis. However, both the information and the product are offered without warranty for any application other than that specified in the current Oxoid Manual.</p>		
<p> ..... Shannon Bearpark Site Quality Manager</p>		
 Certificate No. FM030914 BS EN ISO 9001 BS EN ISO 13485	OXOID LIMITED Wade Road, Basingstoke, Hants RG248PW, England oxid@thermofisher.com www.oxid.com	FDA Reg. No.8010096

**Anexo N:** Certificado de análisis de sangre de cordero, estéril.

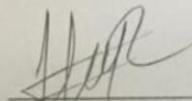
	<h2>Certificado de Análisis</h2>	Fecha de Emisión 18/02/2019
--	----------------------------------	--------------------------------

Código Producto: SC001

Descripción: Sangre de Carnero, Estéril.

Lote: B00899  
Fecha de Colección: 15/02/2019  
Fecha de Vencimiento: 17/03/2019

El producto fue colectado empleando técnica aséptica y se comprobó la esterilidad por cultivo en medio nutritivo.

  
Luis Alvarado Rios  
CTMP 6765

AREZ E.I.R.L.    [www.arezperu.com](http://www.arezperu.com) – email: [correo@arezperu.com](mailto:correo@arezperu.com)  
Teléfono: 994534088

**Anexo O: Certificado cualitativo de seguridad Anaerogen 2,5 L.**

QC01	<b>ThermoFisher</b> SCIENTIFIC	Page 1 of 1	
<b>Quality Assurance Certificate</b>			
<b>Material</b> AN0025A ANAEROGEN 2.5 L (10 pack) <b>Batch</b> 8137ZJ			
<b>Material</b> AN0025A	<b>Batch</b> 8137ZJ	<b>Date of Manufacture</b> 30.06.2018	<b>Expiry Date</b> 01.03.2020
 <b>Date:</b> 03 June 2019			
<p>The above have been tested in our Quality Control Laboratory using conventional procedures and control ATCC and NCTC cultures where appropriate and have met the specified test parameters. Additional challenging strains may also be employed.</p> <p>The information given is believed to be correct, all results reported in this certificate relate only to the product and lot stated in this certificate of analysis. However, both the information and the product are offered without warranty for any application other than that specified in the current Oxoid Manual.</p>			
<p><i>Shannon Bearpark</i> ..... Shannon Bearpark Site Quality Manager</p>			
 Certificate No. PM030614 BS EN ISO 9001 BS EN ISO 13485	OXOID LIMITED Wade Road, Basingstoke, Hants RG248PW, England oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com		FDA Reg. No.8010096

Anexo P: Certificado de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH).

**Calbiochem**<sup>®</sup> 

Certificate of Analysis

**DPPH, Free Radical - CAS 1898-66-4 - Calbiochem**

**Batch Number:** 3252108  
**Material Number:** 300267-50MG  
**Molecular Formula:** C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>

**Molecular Weight:** 394.3  
**RTECS Number:** MW3250000  
**CAS Number:** 1898-66-4

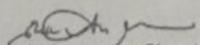
**Quality Release Date:** 11-JUL-2019  
**Recommended Retest Date:** 30-JUN-2021

**Analytical Data**

Test	Tolerance	Result
<b>Solubility:</b>		CHCL3 (50 mg/ml) Black Solid
<b>Color:</b>		Black
<b>Form:</b>		Solid
<b>Purity by Elemental analysis:</b>	≥90.0 %	93.0 %
<b>Carbon:</b>	50.00 % - 58.00 %	55.40 %
<b>Nitrogen:</b>	16.00 % - 19.00 %	16.50 %

**Storage and Handling:** -20°C

This lot conforms to specifications established by EMD Millipore Corporation for this product.

 11-JUL-2019  
Quality Control / Assurance Signature Date

---

Prices and availability are subject to change. ©Copyright 2019 EMD Millipore Corporation, an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Each product is sold with a limited warranty, which is provided with each purchase. Each product is intended to be used for research purposes only. It is not to be used for drug or diagnostic purposes, nor is it intended for human use. EMD Millipore products may not be resold, modified for resale, or used to manufacture commercial products without written approval of EMD Millipore.

**EMD Millipore Corporation | 28820 Single Oak Dr., Temecula, CA 92590**  
**Technical Support NA +1-800-221-1975 | email: [www.millipore.com/techservices](http://www.millipore.com/techservices) | [www.calbiochem.com](http://www.calbiochem.com)**  
**Technical Support All Other Countries - Contact Your Local Office**

**FOR RESEARCH USE ONLY.**

Not for use in diagnostic procedures. Not for human or animal consumption. Purchase of this product does not include any right to resell or transfer, either as a stand-alone product or as a component of another product. Any use of this Product for purpose other than research is strictly prohibited.

Calbiochem and all other trademarks, unless specifically identified as belonging to a third party, are owned by Merck KGaA, Darmstadt, Germany





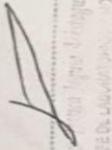
**Anexo S:** Registro de verificación y mantenimiento del Espectrofotometro



**Universidad Norbert Wiener**

FORMULARIO: REGISTRO DE VERIFICACIÓN, MANTENIMIENTO PREVENTIVO INTERNO-EXTERNO Y CALIBRACIÓN.

Nombre del Equipo: ESPECTROFOTOMETRO      Código: 01-00030085  
 Modelo / Serie / Marca: G103 UV-VIS-215P31010-GENESYS      Ubicación: L707  
 Fecha de Ingreso: 08-08-12      2019-II

1 Fecha	2 Verificación	3 A= Aprobado E= Error	4 Comentario	5 Mantenimiento Interno / Externo Acciones Realizadas	6 Requerimiento de Accesorios	7 Estado			8 Realizado por:	9 Calibración		10 Estado	11 Firma Jefe de Área
						B	R	M		SI	NO		
12-08	Brisinda	A	-	Verificación y Funcionamiento	-	✓			Brisinda	✓		B	 <small>Universidad Norbert Wiener</small>
26-08	Brisinda	A	-	Verificación y Funcionamiento	-	✓			Brisinda	✓		B	
27-08	César B	A	-	Limpieza y funcionamiento	-	✓			-	✓		B	
30-09	Rayda Avelar	Δ	-	Verificación y funcionamiento	-	✓			Rayda	✓		B	
24-09	Rayda Avelar	Δ	-	Verificación y funcionamiento	-	✓			Rayda	✓		B	
07-10	Rayda	Δ	-	Verificación y funcionamiento	-	✓			Rayda	✓		B	
21-10	Rayda	D	-	Verificación y funcionamiento	-	✓			Rayda	✓		B	

**NOTA:** Los ítems 1,2,3,4 serán llenados por los docentes y personal designado  
 Los ítems del 5 al 11 por el personal interno o externo correspondiente

F03-LAB-02
V01

Anexo T: Matriz de consistencia de investigaciones.

**MATRIZ DE CONSISTENCIA**

Planteamiento de Problema	Objetivos	Hipótesis	Justificación	Variable	Tipo de Variables	Metodología
<p><b>Generales:</b> ¿Tendrá actividad antibacteriana frente a <i>Cutibacterium acnes</i> y antioxidante los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua"?</p>	<p><b>Generales:</b> Determinar la actividad antibacteriana frente a <i>Cutibacterium acnes</i> y antioxidante los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua".</p>	<p><b>General:</b> Los extractos hidroalcohólicos de hojas, tallos, raíz y flores de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua" presenta actividad antibacteriana frente a <i>Cutibacterium acnes</i> y antioxidante.</p>	<p>El acné vulgar constituye un problema dermatológico frecuente en la población en diferentes etapas de la vida, siendo más prevalente entre personas adolescentes. El presente trabajo de investigación permitirá proponer y difundir el uso de esta planta como una opción de agente antibacteriano natural en el tratamiento de dicha enfermedad, lo que puede servir como tratamiento alternativo para el acné vulgar a un costo accesible para la población de bajos recursos económicos. El estudio de la especie de <i>Hypericum silenoides</i> Juss, contribuye a la identificación de su composición fitoquímica y determinar que parte de la planta tiene mayor actividad antibacteriana, siendo una referencia futura para la elaboración de un producto farmacéutico de origen natural disminuyendo los riesgos de sufrir efectos adversos o colaterales que presenta los antibióticos prescritos para el tratamiento del acné vulgar.</p>	<p><b>Independiente:</b> extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua"</p>	Cualitativa	<p>Para anular los efectos que alguno de los experimentadores pudiese tener, la preparación y medición de las unidades serán realizados por ambos, el orden de experimentación será por sorteo (aleatorio). Conforme se tengan los resultados las mediciones y observaciones realizadas en el laboratorio serán ingresadas al instrumento de recolección de datos.</p> <p>Para la actividad antibacteriana según el método difusión en discos (Kirby, Bauer)</p> <p>Para la actividad antioxidante según el método de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)</p>
<p><b>Específicos:</b> ¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua"?</p> <p>¿Cuál de los extractos hidroalcohólicos de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua" presenta mayor actividad antibacteriana frente a <i>Cutibacterium acnes</i>?</p>	<p><b>Específicos:</b> Identificar los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua".</p> <p>Determinar cuál de los extractos hidroalcohólicos de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua" presenta mayor actividad antibacteriana frente a <i>Cutibacterium acnes</i>.</p>	<p><b>Específicos</b> <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua", presenta como metabolitos secundarios flavonoides, esteroides, taninos.</p> <p>Los extractos hidroalcohólicos de hoja, tallo, flor y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua" tienen actividad antibacteriana frente a <i>Cutibacterium acnes</i>.</p>		<p><b>Dependiente:</b></p> <p>Actividad antibacteriana</p> <p>Actividad antioxidante</p>	Cuantitativa	

<p>¿Cuál es la concentración efectiva de los extractos hidroalcohólico de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua" frente a <i>Cutibacterium acnes</i>?</p> <p>¿Cuál de los extractos hidroalcohólico de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua" presenta mayor actividad antioxidante?</p>	<p>Determinar a qué concentración son efectivos los extractos hidroalcohólico de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua" frente a <i>Cutibacterium acnes</i>.</p> <p>Determinar cuál de los extractos hidroalcohólico de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua" presenta mayor actividad antioxidante.</p>	<p>Los extractos hidroalcohólico de hoja, tallo, flor y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua" son efectivos a una concentración mínima frente a <i>Cutibacterium acnes</i>.</p> <p>Los extractos hidroalcohólico de hoja, tallo, flor y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua" presentan mayor actividad antioxidante.</p>				
--	---	---	--	--	--	--

**Anexo U:** Operacionalización De Variables.

**OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

Variable	Dimensión	Indicador	Valores	Criterios de medición	Tipo de Variable	Instrumentos
<b>Independiente:</b> extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de <i>Hypericum silenoides</i> Juss "Canchalagua"	Metabolitos secundarios	Coloración Precipitación	positivo negativo	Coloración Precipitación	Cualitativa	visual
	Solubilidad	Disolución	Soluble insoluble	Disolución	Cualitativa	visual
<b>Dependiente:</b> Actividad antibacteriana	Actividad antibacteriana	Inhibición del crecimiento	mm	Diámetro de halos de inhibición	Cuantitativa	vernier
Actividad antioxidante	Actividad antioxidante	Concentración inhibitoria media (IC50)	µg/mL	Absorbancia	Cuantitativa	Espectrofotómetro