

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de un
gel elaborado con extracto etanólico de hojas de Senecio
rhizomatus Rusby (Asteraceae)**

TESIS

Para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutica

AUTOR

María Ysabel Soto Montoya

ASESOR

César Máximo Fuertes Ruitón

Lima – Perú

2015

DEDICATORIA

A mi madre Manuela, por ser maravillosa, dulce
y tierna; por sus cuidados, dedicación y enseñanzas.
Por su amor, más grande que cualquier otra cosa
en este mundo. Te amo mamá.

A mi padre Marcial, por todos los recuerdos
felices a tu lado.
En mi corazón, hasta el último día de mi vida.
Gracias papá.

A mis hijos Enzo Adrián y André Fabián.
Las estrellas que me iluminan y me dan impulso.

A Manfred por ser parte de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de tesis Mg. César Máximo Fuertes Ruitón,
por brindarme la oportunidad de trabajar con él,
y por su apoyo constante para la culminación de este proyecto.

Por siempre agradecida.

A mi co- asesor de tesis Q.F. Robert Dante Almonacid Román.
Por haber aceptado ser parte de este proyecto y sus enseñanzas.

Al presidente del jurado Q.F. Fritz Fedor Choquesillo Peña.

A los jurados: Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz,

Q.F. Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa,

Q.F. Benedicta Carmen López Flores.

Por su contribución para la mejora de este trabajo de Investigación.

A la Sra. Clara Palacios Rotta,

a mi amiga Carmen Quintana, por su apoyo incondicional.

ÍNDICE

Índice de tablas

Índice de figuras

Lista de abreviaturas y símbolos

Resumen

Abstract

I Introducción.....1

II Generalidades.....3

II.1 Familia *Asteraceae*3

II.2 Familia *Asteraceae* en el Perú.....4

II.3 El género *Senecio*6

II.4 Breve estudio botánico de *Senecio rhizomatus* Rusby.....7

II.4.1 Taxonomía.....7

II.4.2 Descripción botánica.....8

II.4.3 Hábitat.....9

II.4.4 Usos.....9

II.4.5 Modalidades de aprovisionamiento.....10

II.4.6 Distribución mundial.....11

II.4.7 Distribución en el Perú.....11

II.4.8 Actividad biológica y farmacológica de la especie.....11

II.4.9 Composición química.....	13
II.5 Plantas medicinales.....	14
II.5.1. Efecto antimicrobiano de las plantas medicinales.....	15
II.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	17
II.6.1 <i>Staphylococcus aureus</i> como flora bacteriana normal.....	17
II.6.2 Infecciones hospitalarias causadas por <i>S. aureus</i>	18
II.7 Forma farmacéutica.....	20
II.7.1 Geles.....	20
II.7.2 Gel desinfectante.....	21
III Parte Experimental.....	24
III.1 Materiales, cepas bacterianas, equipos y reactivos.....	24
III.1.1 Material de laboratorio.....	24
III.1.2 Equipos.....	25
III.1.3 Reactivos.....	26
III.1.4 Cepas bacterianas.....	27
III.1.5 Material botánico.....	28
III.2 Diseño experimental.....	28
III.2.1 Recolección y clasificación taxonómica.....	28
III.2.2 Estabilización de las hojas	29
III.2.3 Molienda.....	30

III.2.4 Preparación del extracto y desecado.....	30
III.2.5 Pruebas fitoquímicas y determinación de metabolitos	
Secundarios.....	31
III.2.6 Determinación fenotípica de las cepas ATCC, <i>S. aureus</i>	
Cepa hospitalaria y de la comunidad.....	34
III.2.7 Determinación del efecto antimicrobiano <i>in vitro</i>	36
III.2.7.1 Aislamiento e identificación de las cepas de <i>S.</i>	
<i>Aureus</i>	36
III.2.7.2 Formulación del gel antibacterial.....	37
III.2.7.3 Evaluación del efecto antimicrobiano.....	39
IV Resultados.....	40
V Discusión.....	50
VI Conclusiones.....	55
VII Recomendaciones.....	56
VIII Referencias bibliográficas.....	57
Anexos.....	63
Glosario.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	Título	Página
1	Composición química de la especie <i>Senecio Rhizomatus</i> Rusby según bibliografía.	14
2	Metabolitos secundarios y reacciones de Coloración en el extracto etanólico de hojas de <i>Senecio rhizomatus</i> Rusby.	40
3	Pruebas fenotípicas de cepas ATCC, hospitalaria y de la comunidad de <i>S. aureus</i> .	42
4	Características del gel antimicrobiano.	46
5	Halos de inhibición de los geles elaborados Frente a cepas de <i>S. aureus</i> hospitalaria y Comunitaria.	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Planta completa de "Llancahuasha" <i>Senecio rhizomatus</i> Rusby.	28
2	Hojas secas de <i>Senecio rhizomatus</i> R.	29
3	Diagrama de flujo para la determinación de Metabolitos Secundarios.	32
4	Cromatograma en Sílicagel G para la determinación de alcaloides.	41
5	Prueba de identificación fenotípica en colonias de <i>S. aureus</i> de la comunidad sembradas en Agar Baird Parker.	43
6	Prueba catalasa positiva frente a cepa comunitaria de <i>S. aureus</i> .	44
7	Prueba coagulasa en tubo frente a cepa comunitaria y hospitalaria de <i>S. aureus</i>	45
8	Halo de inhibición de 20mm del gel base + 25 mg/mL de extracto etanólico frente a cepa comunitaria de <i>S. aureus</i>	48
9	Halo de inhibición de 15mm del gel base + 12,5 mg/mL de extracto etanólico frente a cepa comunitaria de <i>S. aureus</i>	48

- | | | |
|----|---|----|
| 10 | Halo de inhibición de 13 mm del gel comercial frente a cepa comunitaria de <i>S. aureus</i> . | 49 |
| 11 | Gel base sin alcohol ni extracto etanólico frente a cepa comunitaria de <i>S. aureus</i> . | 49 |

LISTA DE ABREVIATURAS

m	metro(s)
msnm	metros sobre el nivel del mar
INEI	Instituto Nacional de Estadística e Informática
SERNANP	Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas
%	por ciento
um	micrometro(s)
QP	Químicamente Puro
MH	Agar Mueller Hinton
BHI	Caldo Cerebro Corazón
DMSO	Dimetilsulfóxido
TEA	Trietanolamina
ATCC	American Type Culture Collection
°C	grados Celsius
g	gramo(s)
mL	mililitro(s)
CCF	Cromatografía en Capa Fina
Rvo.	Reactivo
cps	centipoise
L	litro(s)
Rx.	reacción
uL	microlitro(s)
min	minuto(s)
cm	centímetro(s)
h	hora(s)
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina
ETGPA	Agar huevo-telurito-glicina-pirubato

RESUMEN

El uso de plantas para el alivio de afecciones de manera exitosa nos lleva a investigar su actividad y hacer formulaciones aprovechando los principios activos de estas. Es así; que en el presente trabajo se determinó el efecto antimicrobiano del gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby; planta seleccionada en base a la etnobotánica y etnofarmacología, se recolectó en la zona de Chavín de Huantar, distrito de Huari, Departamento de Ancash, su nombre común es “Llancahuasha”; con la cual se hizo un extracto etanólico de hojas para la determinación de metabolitos secundarios utilizando reacciones en tubo y Cromatografía en Capa Fina para la determinación de Alcaloides. Con el extracto etanólico se elaboró un gel antimicrobiano a concentraciones de 12,5 y 25 mg/mL; se evaluó su efecto antimicrobiano mediante el método de difusión en agar, utilizando para ello cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de muestra clínica hospitalaria y de la comunidad. Se encontró alcaloides, flavonoides y saponinas esteroidales y mediante la lectura e interpretación de zonas claras de inhibición del crecimiento bacteriano se comprobó el efecto antibacteriano significativo del gel a concentración de 25 mg/mL frente a cepa de la comunidad de *S. aureus*, el halo de inhibición formado fue de 20 mm y con la cepa hospitalaria el halo de inhibición formado fue de 18 mm. Se concluye entonces que el gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby tiene efecto antibacteriano *in vitro*.

Palabras clave: *Senecio rhizomatus*, gel antimicrobiano, difusión en agar, *Staphylococcus aureus*, inhibición.

ABSTRACT

The use of plants to relieve infections successfully leads us to investigate their activities and make formulations taking advantage of the active ingredients present. Is thus; in this study the antimicrobial effect of the gel made from ethanol extract of leaves of *Senecio rhizomatus* Rusby, selected based on ethnopharmacy and ethnobotany. It was collected in the area of Chavin de Huantar, Huari district, Department of Ancash, the common name of this species is "Llancahuasha", which it was made an ethanolic extract of leaves for determination of secondary metabolites using tube reactions and Thin Layer Chromatography for determination of alkaloids. With ethanolic extract, it is elaborated an antimicrobial gel at concentrations of 12,5 and 25 mg/mL ; Its antimicrobial effect was evaluated by the agar well diffusion method, using strains of *Staphylococcus aureus* isolated from hospital clinic and community samples. It was found alkaloids, flavonoids and steroidal saponins by reading and interpreting of clear zones of inhibition of bacterial growth, it was found significant antibacterial effect of the gel to a concentration of 25 mg/mL versus community strain of *S. aureus*, halo inhibition formed was 20 mm and hospital strain, with the inhibition halo formed was 18 mm. It is concluded that the gel made from ethanol extract of leaves of *Senecio rhizomatus* Rusby has antibacteril effect *in vitro*.

Keywords: *Senecio rhizomatus*, antimicrobial gel, agar well diffusion, *Staphylococcus aureus*, inhibition

I. INTRODUCCIÓN

Los estudios del antiguo Perú demuestran que el poblador peruano desde épocas muy remotas es conocedor de las cualidades medicinales, alimenticias y tintóreas de las plantas (1), este uso es de forma tradicional confiando exclusivamente en la experiencia práctica, la observación de las formas de uso y las enfermedades o dolencias en las cuales actúa y es transmitido de generación en generación, en forma oral o escrita (2).

Senecio rhizomatus Rusby planta maravillosa, es utilizada como planta medicinal, sobre todo por el poblador de bajos recursos que vive en zonas alejadas y muchas veces no puede acceder a una farmacia. Esta planta crece en el Parque Nacional Huascarán que ocupa la mayor parte de la Cordillera Blanca en el Departamento de Ancash, no solo cuenta con una belleza escénica, sino que científicamente es representativa de los Andes en términos de medio ambiente y elementos bióticos (1), crece también en otras zonas alto andinas como Huancayo (3), Arequipa (4), Junín (5), Huancavelica, Ancash, Apurímac, Cusco, La Libertad (6); siempre a grandes altitudes.

Senecio rhizomatus Rusby tiene hermosas hojas de color verdes en el haz y lilas en el envés, con flores amarillas. El poblador andino usa las hojas en infusión como antitusígeno para la tos y neumonía, en maceración para el acné y forúnculos, en decocción para heridas. Los resultados obtenidos en la cura de estas afecciones son exitosos, dándole a esta planta poderes “mágicos”, todos estos usos medicinales

folklóricos sugieren un efecto antimicrobiano el cual en investigaciones anteriores se han comprobado usando como cepa al *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus*, *S. faecalis* brindando la base científica para su uso (1).

Con estos antecedentes, con el extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby elaboramos un gel antimicrobiano para manos, antiséptico más adecuadamente llamado gel sanitizante, que se podría utilizar como alternativa al agua y jabón.

I.1 Objetivo General

Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby

I.2 Objetivos Específicos

- Obtener el extracto etanólico de las hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby.
- Realizar el estudio fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby
- Elaborar un gel con extracto etanólico de las hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby
- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del gel elaborado.

I. GENERALIDADES

Nuestra planta en estudio, *Senecio rhizomatus* Rusby pertenece a la familia *Asteraceae*.

II.1 Familia *Asteraceae*

La familia de las Asteráceas (*Asteraceae*), antiguamente denominadas compuestas es cosmopolita con cerca de 1500 géneros y más de 25000 especies por lo que son las plantas Angiospermas con mayor riqueza y diversidad biológica. La familia está caracterizada por presentar las flores dispuestas en una inflorescencia compuesta denominada capítulo, la cual se halla rodeada de una o más filas de brácteas (involucro). El nombre “*Asteraceae*” deriva del género tipo de la familia *Aster*, término que a su vez proviene del griego *ἀστήρ* que significa “estrella” y hace alusión a la forma de la inflorescencia. Por otro lado, el nombre “compuestas”, más antiguo pero válido, hace referencia al tipo particular de inflorescencia compuesta que caracteriza a la familia y que solo se halla en muy pocas familias de Angiospermas (7).

Las especies de la familia *Asteraceae* presentan una considerable importancia ecológica y económica y los miembros de esta familia se distribuyen desde las regiones polares hasta los trópicos, conquistando todos los hábitats disponibles, desde los desiertos secos hasta los pantanos y desde las selvas hasta los picos montañosos. En muchas regiones del mundo esta familia llega a integrar hasta el 10% de la

flora vernacular. La familia contiene algunos géneros con una gran cantidad de especies, como es el caso de *Senecio* (con 1250 especies), *Hieracium* (1000 especies) y *Helichrysum* (600 especies). Son plantas herbáceas, raramente árboles, arbustos o lianas. Muchas especies presentan látex y también aceites esenciales. Pueden o no ser resinosas. Las hojas en general están bien desarrolladas, en algunos casos se hayan bien reducidas. En general no son plantas suculentas. Pueden ser anuales, bienales o perennes.

Su distribución es cosmopolita, exceptuando la región Antártida, y se la encuentra en todos los ambientes. La evidencia filogenética y los datos paleontológicos sugieren que el ancestro de *Asteraceae* surgió en el hemisferio sur, en el área que hoy corresponde a la región andina de Sudamérica (8).

II.2 Familia *Asteraceae* en el Perú

La flora peruana ha sido una de las más estudiadas de Sudamérica sobre la base de métodos pan-biogeográficos (8), es así que la familia *Asteraceae* es la segunda familia de plantas con mayor riqueza de especies en Perú. Mayormente son hierbas anuales o perennes, arbustos más raramente árboles o lianas. Se encontraron 1669 taxones de *Asteraceae* con algún tipo de registro en Perú, distribuidos en 255 géneros y 1590 especies, se reconocen 724 endemismos de los cuales 695 son especies y 29 variedades, los géneros con mayor número de especies son *Senecio*, *Gynoxys* y *Verbesina*. Esta familia incluye 11 géneros endémicos del Perú: *Ascidogyne*, *Aynia*, *Bishopanthus*, *Chucoa*, *Ellenbergia*, *Hughesia*, *Notobaccharis*, *Pseudonosoris*,

Schizotrichia, *Syncretocarpus* y *Uleophytum*. Los endemismos reconocidos ocupan la mayoría de las regiones ecológicas, principalmente la mesoandina, bosques pluviales, montañas y bosques muy húmedos, desde el nivel del mar hasta por encima de los 4000 m de altitud (9), con excepción de la Selva Baja (10).

Se caracterizan por presentar las flores agrupadas en capítulos, inflorescencia que funcionalmente se comporta como una flor. Hojas sin estípulas, generalmente alternas, en ocasiones en roseta basal; pueden presentar espinas. La inflorescencia es un capítulo, que consiste en una estructura ensanchada (receptáculo) donde se sitúan desde una a cientos de flores, rodeadas por las brácteas del involucre. El receptáculo puede ser plano, cóncavo o convexo y tener escamas o pelos entre las flores. Flores hermafroditas, unisexuales o estériles. Sin cáliz o con este reemplazado por vilano de pelos o escamas; los pelos pueden ser lisos, escábridos o plumosos. Corola formada por 5 pétalos soldados; puede ser tubulosa, con forma de tubo (flósculos o flores flosculosas) o de lengüeta con 3 o 5 dientes (lígulas o flores liguladas) (11).

Las *Asteraceae* se distribuyen por todo el territorio peruano, los registros de altitud de los taxones van desde los 0 hasta los 6000 msnm (8).

II.3 El Género *Senecio*

El género *Senecio* establecido originalmente por Linneo con 25 especies ahora se conocen más de 3000, toma su nombre del verbo latino *senecere*, que significa volverse viejo.

El uso medicinal de este género es muy antiguo en un reporte de la región de Iraq (Slamidar) se encontró polen que data de la época del hombre de Neanderthal (sesenta mil años AC).

El género *Senecio* es una fuente importante de alcaloides pirrolizidínicos o alcaloides hepatotóxicos como la fucsina y rutina (*S. memorensis*), una gran cantidad de estos alcaloides manifiestan propiedades parecidas a la atropina siendo empleadas en medicina con el mismo fin, otros autores clasifican los alcaloides pirrolizidínicos como delirantes y neurotóxicos, también se han aislado furanoeremofilanos y sesquiterpenos con esqueleto de eremofilanos y no furánicos.

El contenido de ácido tánico explica el efecto adyuvante como hemostático y como astringente en tratamientos de heridas en la medicina india (12).

En el Perú se registraron 175 especies de *Senecio* (13), de los cuales 97 son endémicas del Perú, (especie endémica es aquella cuyo ámbito de distribución natural se encuentra restringido a una región geográfica particular) la especie en estudio no tiene como área natural de distribución al Perú (11). Otros autores mencionan que existen unas 106 especies del género en nuestro país que representa aproximadamente el 60% de la diversidad de *Senecio* en Sudamérica (14, 15).

II.4 Breve estudio botánico de *Senecio rhizomatus* Rusby

II.4.1 Taxonomía

La clasificación de la planta en estudio se realizó a través del Museo de Historia Natural, según el sistema de clasificación de Cronquist (Anexo 1) y es la siguiente:

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: *Asteraceae*

Género: *Senecio*

Especie: *Senecio rhizomatus* Rusby

Nombre vulgar o común: “Llancahuasha”, otros nombres con los que se le conoce en la bibliografía: “caca de coa”, “hancahuasa”, “lancahuasha”, “llanca-huasca”, “ticlla-huasca”, “ticllaihuarmi”, nombres dados por los pobladores de Yura-Chivay en el departamento de Arequipa (4). También llamada “llancahuasha”, “llancahuasi”, “yancahuasi”, “yancahuasa”, por los pobladores de las comunidades campesinas de Quero y Masma Chicche ubicada en el departamento de Jauja (5).

II.4.2 Descripción Botánica

Senecio Rhizomatus Rusby es una hierba perenne, postrada, de 35 x 100 cm; tallos simples, ascendentes o erectos, cubiertos de tricomas glandulares, laxamente ojerosos. Hojas basales pocas, arrosetadas, largamente pecioladas, con peciolo delgado de hasta 10 cm de largo, glanduloso pubescente, envainador en la base. Lámina ovado-lanceolada u ovada, herbácea, aguda en el ápice y deltoide o redondeada en la base, irregularmente dentada en el margen, laxamente glanduloso-pubescente hasta casi glabra, de 5-12 cm de longitud por 2-5 cm de anchura. Hojas caulinares distantes, semejantes a las basales pero gradualmente menores; las superiores sésiles, oblongo-lanceoladas, agudas en el ápice, ensanchadas y semiamplexicaules en la base, dentadas en el margen, de hasta 10 cm de longitud por 1,5 cm de ancho.

Capítulos terminales, discoideos, de 20 x 10 mm; pedúnculo con bracteolas lanceoladas, pequeñas y alternas. Calículo con 6 brácteas, filariformes. Involucro con una serie de 15 brácteas lanceoladas de 12 x 3 mm. Flores muy numerosas amarillas isomorfas, con corolas tubulosas, hermafroditas, actinomorfas, pentadentadas, cáliz plumoso; estambres con anteras unidas, ovario ínfero y estilo dividido en dos ramas. Fruto, un aquenio; florece en otoño e invierno raras veces en primavera o verano (4, 6).

Uno de los primeros registros de *Senecio Rhizomatus* Rusby se encuentra en el New York Botanical Garden con el N° 1050 y es del año 1896 (Anexo 2).

II.4.3 Hábitat

Se desarrolla en suelos muy húmedos y generalmente asociada a roquedales donde se protege de la luz solar directa o muy cerca de la laguna siempre pegada a roquedales que circundan esta. Crece asociada a la paja de agua (poacea), llamada yacuqsha a 4000-4600 msnm (4 y 5).

II.4.4 Usos

El único uso que se le da a esta especie es el de ser medicinal. Se hace una recopilación de datos encontrando las siguientes formas de uso, dependiendo la afección en la que es empleada y el lugar de esta en el cuerpo. Así tenemos que para las torceduras se utiliza toda la planta en forma de emplastos; en afecciones cutáneas, acné y forúnculos se utilizan las hojas en maceración; en casos de neumonía, tos y bronquios en infusión y para inhalaciones; en quemaduras como macerado, lavados y baños; en úlceras gástricas en decocción; para curar heridas en decocción tibia y las hojas sancochadas son aplicadas en forma de cataplasma. Se recomienda no tomar la infusión en forma crónica y no ingerir la maceración porque produce enfermedad al hígado (1, 4 y 5).

El INEI señala que *Senecio Rhizomatus* Rusby pertenece a la flora vulnerable en el Perú, junto a otras especies de *Senecio* como: *Senecio casapaltensis* Ball, *Senecio pflanzii* (Perkins) Cuatrec, *Senecio nivalis* (HBK) Cuatrec, *Senecio nutans* Schultz - Bip “Chachacuma”, *Senecio torrehuasensis* Cuatrec, *Senecio violaefolius* Cabrera “Huamanrripa”.

Se define como flora vulnerable cuando la mejor evidencia disponible acerca de un taxón indica que existe una reducción de sus poblaciones, su distribución geográfica se encuentra limitada (menos de 20,000 km²), el tamaño de la población estimada es menos de 10,000 individuos y el análisis cuantitativo muestra que la probabilidad de extinción en estado silvestre es de por lo menos 10% dentro de 100 años. Fuente: Ministerio de Agricultura (15).

II.4.5 Modalidades de aprovisionamiento

La principal modalidad de obtención de ésta planta es la recolección, lo que permite asumir que esta planta crece en forma silvestre y sin ningún tipo de manejo ya que tiene como su principal hábitat las tierras comunales ubicadas en partes altas y estos terrenos corresponden a áreas de pastos naturales destinados a la crianza extensiva de ovinos. Las personas refieren que cada vez requieren de más tiempo para encontrar las plantas medicinales, ya sea porque crecen en lugares alejados o porque en las zonas de pastoreo son dañadas por los animales (5).

Además debemos tener en cuenta que siendo una planta que crece en el Parque Nacional Huascarán cada vez que se recoge debe solicitar un permiso especial otorgado por el Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas (SERNANP) (16).

II.4.6 Distribución mundial

Se le puede encontrar en los países de Perú y Bolivia en este país en los departamentos de la Paz y Cochabamba. En suelos rocosos con pastos, generalmente entre 3500 y 5000 msnm, aunque a veces se halla en niveles más bajos (6).

II.4.7 Distribución en el Perú

En el Perú se le puede encontrar en la zona alta de los andes a altitudes por encima de los 4000 msnm como en el valle del Huascarán, en las localidades de Huancayo, Jauja e inclusive en la ciudad de Canta en el valle del Chillón. Además en los departamentos de Arequipa, Cusco, La Libertad, Huancavelica, Ancash y Apurímac (3, 4, 5, 6, 17).

II.4.8 Actividad biológica y farmacológica de la especie

Senecio rhizomatus Rusby, nuestra especie en estudio, en cuanto a la actividad biológica y farmacológica que produce en el organismo humano ya describimos los usos medicinales. Así también a otras especies de *Senecio* como *Senecio matewsii* Wed, se le da uso medicinal como antirreumático, *Senecio nutans* Sch. Bip., nombre vulgar “chachacona”, uso medicinal en infusión para dolores estomacales y mal de altura, *Senecio spinosus* DC, nombre vulgar “china calli”, se utiliza como forraje en época de escasez de pastos, y así sucesivamente (4).

Cabe mencionar la toxicidad de las plantas del género *Senecio* que se debe a compuestos que fueron identificados por primera vez en el año 1885 en *Senecio vulgaris*; dicha toxicidad es atribuida a un alcaloide pirrolizidínico que es metabolizado en el hígado por procesos de hidrólisis, N-oxidación y demetilación. Los derivados de procesos de oxidación son compuestos que afectan principalmente al hígado al producir intensos cambios hepatocelulares; identificados como megalocitos, también afectan los pulmones, riñones, el intestino y sistema nervioso central. En la mayoría de las especies de *Senecio* este alcaloide se encuentra en mayor proporción en las hojas así como en rizomas en la minoría de estas.

Los primeros hallazgos de intoxicación en animales se realizaron en el año 1902, cuando se relacionaron afecciones hepáticas en bovinos con el consumo de *Senecio* en África, luego se detectaron casos en Inglaterra, Canadá, EEUU, Uruguay, Australia, Chile y Argentina (18).

A los alcaloides por ser bases nitrogenadas se le confiere una acción fisiológica más o menos intensa sobre los animales incluido el hombre lo cual explicaría porque este alcaloide pirrolizidínico tendría este efecto severo en los animales que lo consumen (19).

La especie *Senecio formosus* (árnica colombiana) oriunda de Colombia que también se encuentra en Venezuela y el Ecuador, es usada en medicina tradicional en infusiones, tintura y cataplasma para el tratamiento de hemorragias y externamente para contusiones. Esta planta principalmente en sus hojas tiene en su composición dos alcaloides pirrolizidínicos llamados retrorsina e integerrimina. En los

animales que consumen esta especie se presentan lesiones en el hígado caracterizada por la megalocitosis de las células del parénquima hepático y cambios en las venas centrolobulares similares a las observadas en la enfermedad veno oclusiva, también cambios hemáticos así como lesiones renales y de pulmón (20).

En la especie *Senecio fistulosus* nombre común hualtata, que crece en forma silvestre en las regiones central y sur de Chile, su uso popular está difundido por sus efectos en el corazón como antifibrilante. Utilizando los rizomas se realizaron ensayos en aurículas aisladas de cobayo comprobando efectos en la fuerza de contracción y frecuencia cardíaca por la presencia de senecionina alcaloide pirrolizidínico este es caracteriza por ser un potente tóxico por lo cual se debe evitar el uso indiscriminado (21).

En el estudio realizado por Tamariz en *Senecio rhizomatus* recomienda no tomar la infusión en forma crónica y no ingerir la maceración porque produce trastornos al hígado, esta misma recomendación es dada por Arellano (1, 22).

II.4.9 Composición química

La bibliografía refiere para *Senecio rhizomatus* Rusby, los siguientes resultados en cuanto a su composición química y marcha fitoquímica.

Tabla 1: Componentes Químicos de *Senecio rhizomatus* Rusby según bibliografía consultada (1 y 5)

METABOLITO SECUNDARIO	MÉTODO DE ENSAYO
Taninos	Tricloruro férrico
aminoácidos	Ninhidrina
Flavonoides	Shinoda
Esteroides-Triterpenos	Liebermann-Burchard
Alcaloides	Dragendorff
Cardenólidos	Kadde

II.5 Plantas medicinales

Muchas plantas han sido utilizadas desde la antigüedad como tratamientos no convencionales seguros. En la actualidad, la OMS estima que un 80% de la población en países desarrollados utilizan la medicina tradicional como tratamiento contra enfermedades o como suplemento al tratamiento convencional. Un porcentaje importante, de plantas utilizadas en la medicina tradicional, son plantas aromáticas. La efectividad de los productos herbolarios depende del tipo y la cantidad de sus componentes químicos, del método de extracción utilizado, de las condiciones ambientales de la localización de la planta y de la época de colecta. Los compuestos activos son aislados como extractos crudos o aceites esenciales de plantas, una vez extraídos y purificados, pueden usarse como tal, o con la ayuda de la química sintética, utilizarlos como precursores de fármacos (23).

II.5.1 Efecto antimicrobiano en las plantas medicinales

Es común el empleo de partes vegetales con la finalidad de obtener efectos terapéuticos, entre las variadas aplicaciones terapéuticas de los vegetales se incluye la acción antibacteriana. Estos efectos en muchos casos han sido respaldados por estudios científicos, los hallazgos obtenidos del estudio de vegetales con potencial terapéutico podrán servir de apoyo médico-social para un mayor grupo poblacional, principalmente el más carente, estando también la industria farmacéutica más interesada en los conocimientos de esta área. Nuevas fuentes de productos antimicrobianos, especialmente vegetales, están siendo investigadas, de otra parte el público hoy en día tiene más problemas con la auto prescripción y mal uso de antibióticos tradicionales lo cual genera una alta resistencia bacteriana; además se tiene más interés en tener autonomía sobre el cuidado médico, es por ello que una multitud de componentes vegetales se encuentra fácilmente disponible a través de los comercializadores de plantas y productos naturales, tiendas naturistas, con lo que la automedicación con estas sustancias se hace cada vez más común. El uso de extractos de plantas, como también de otras formas alternativas de tratamientos médicos, tomó gran popularidad a finales de la década de 1990 (24). Los compuestos fitoquímicos antimicrobianos son:

Flavonas, flavonoides y flavonoles: Son estructuras fenólicas que contienen un solo grupo carbonilo; estos compuestos son sintetizados por las plantas en respuesta a la infección microbiana y su actividad sobre las bacterias probablemente se deba a su capacidad de generar complejos con proteínas extracelulares y proteínas solubles, así como

una actividad sobre la pared celular, muy similar a la de las quinonas. Los flavonoides lipofílicos pueden perturbar la integridad estructural de la membrana celular.

Terpenoides y aceites esenciales: Los terpenos o terpenoides son activos contra bacterias, virus, hongos y protozoarios. Se ha reportado que los terpenoides actúan contra *Listeria monocytogenes*. Se cree que esta actividad antimicrobiana se debe a una perturbación de la estructura de la membrana celular por su naturaleza lipofílica (24).

Alcaloides: Reciben esta denominación los compuestos nitrogenados heterocíclicos, pertenecen a este grupo sustancias como la morfina, la heroína y la cocaína. El mecanismo de acción de los alcaloides parece ser mediante intercalación entre la pared celular y el DNA del microorganismo

Isoflavonoides: Actúan como efectivas fitoalexinas, las cuales pueden ser definidas como compuestos antimicrobianos de pequeño peso molecular o metabolitos de estrés biológico, ellos pueden ser constitutivos o también ser inducidos por ataque biológico o heridas. Los constituyentes varían entre especies y también varían dependiendo la edad y el ambiente en el que se encuentra la planta. Estos flavonoides inhiben la germinación de esporas de hongos y causan daño en los sistemas de membranas. El recubrimiento de algunas semillas y algunas resinas de árboles son particularmente ricas en flavonoides antimicrobianos.

Esteroides y triterpenoides: Los compuestos esteroidales pueden interferir determinados procesos de síntesis vitales en la célula bacteriana y los triterpenos; por su parte, pueden actuar siguiendo

diversos mecanismos en dependencia de su naturaleza química; los de naturaleza hidrocarbúrica, por ejemplo; tienen generalmente acción depresora sobre la tensión superficial lo cual, cuando tiene lugar en el entorno de la célula bacteriana, altera la selectividad de la membrana citoplasmática para el intercambio de sustancias. Los triterpenos de naturaleza alcohólica pueden alterar la naturaleza coloidal del protoplasma de la célula provocando su muerte (25).

II.6 *Staphylococcus aureus*

El *S. aureus* es un coco Gram positivo cuyas células miden aproximadamente 0,5 a 1 micrómetro de diámetro, se agrupan en racimos que son indicativos de que tienen la capacidad de dividirse en más de un plano. Su respiración es aeróbica y anaeróbica y la mayoría de cepas pueden fermentar el manitol de manera anaeróbica. Sobre el agar forman colonias doradas (latin *aureum*) o blancas. Producen catalasa, coagulasa y un factor de agrupamiento extracelular, algunas cepas producen cápsulas. Los estafilococos son organismos oportunistas y patógenos adaptables que tienen la capacidad de infectar, invadir, persistir y replicarse en cualquier tejido humano incluyendo la piel, los huesos, órganos internos o tejido vascular. El *S. aureus* es uno de los principales patógenos en humanos y animales, capaz de causar una amplia gama de infecciones de diferente severidad, ha desarrollado de forma gradual una resistencia a todas las clases de antibióticos y su virulencia es variable entre cepas. Los *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM), han surgido por la adquisición de un elemento genético móvil llamado casete

cromosómico estafilocócico, que transporta el gen *mecA*, del cual se han descrito cinco tipos diferentes en tamaño y estructura.

El surgimiento de varias cepas resistentes se ha presentado en varios grupos bacterianos, especialmente en los estafilococos, su capacidad de producir enfermedad está fuertemente relacionada con el amplio uso de los antibióticos, además de su enorme potencial para desarrollar resistencia múltiple. Las infecciones estafilocócicas más serias permanecen asociadas con una alta mortalidad (26).

S. aureus es; probablemente, el más versátil de los microorganismos patógenos. Puede producir enfermedad por toxinas o super antígenos, invadir cualquier órgano o tejido y originar supuración, necrosis tisular, trombosis vascular y bacteriemia. Es el microorganismo con mayor capacidad de originar metástasis por vía hematógena. Puede crecer en el citoplasma celular, formar biopelículas y originar bacteriemia persistente o infección crónica o permanecer quiescente y reactivarse meses o años más tarde. Coloniza determinadas áreas de la piel y las mucosas, desde donde causa reinfecciones, contamina el entorno y se extiende a otros pacientes. Por otro lado, si la densidad de población bacteriana en el foco infeccioso es elevada, *S. aureus* puede hacerse resistente a la mayoría de antibióticos empleados en monoterapia (27).

II.6.1 *Staphylococcus aureus* como microbiota normal

La piel posee el llamado manto ácido en el cual se produce colonización bacteriana desde el momento del nacimiento, lo que constituye la flora bacteriana normal o residente de la piel, pudiendo encontrarse una gran variedad de microorganismos que en algunas

condiciones se transforman en patógenos. Las bacterias más habituales son: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*. El transporte nasal de *S. aureus* en los humanos es el mayor factor de riesgo en las infecciones estafilocócicas, debido a que la colonización es relativamente común tanto en pacientes como en personas sanas que no han manifestado síntomas de enfermedad. Existen dos patrones de transporte nasal: transporte persistente y transporte intermitente. La densidad de las poblaciones de *S. aureus* en las fosas nasales es alta en transportadores persistentes, lo cual explica un incremento en el riesgo de infección. El tamaño de las poblaciones bacterianas es variable en los transportadores intermitentes. Estas personas pueden permanecer colonizados por años sin que la bacteria les cause enfermedad o daño, cuando incrementan su presión de colonización, pueden traspasar las bacterias a otros pacientes que también comienzan a transportar bacterias resistentes o que pueden adquirir una infección resistente (26).

II.6.2 Infecciones hospitalarias causadas por *S. aureus*

S. aureus en los hospitales, son responsables de un millón de infecciones serias al año, es transportado en superficies mucosas, dentro de este contexto los estafilococos tiene una relación de simbiosis benigna con sus hospedantes, sin embargo, la apertura de la barrera cutánea por un trauma por agujas de inoculación o por la implantación directa de instrumentos quirúrgicos permite a los estafilococos entrar al hospedante y adquirir el rol de patógeno.

El *S. aureus* permanece entre los patógenos hospitalarios más importantes debido a la diversidad y severidad de las infecciones que causa. Algunos estudios han demostrado que estas infecciones son causadas comúnmente por la propia flora comensal de los pacientes, el reservorio original del cual los pacientes adquieren estas bacterias no se ha aclarado, mientras que algunos pacientes infectados son colonizados por *S. aureus* al tiempo de la hospitalización otros probablemente se colonizan con aislamientos altamente resistentes a los antibióticos durante sus estancias en los hospitales, el personal hospitalario está implicado entre las posibles fuentes de estos patógenos potencialmente más resistente a los antibióticos, la transmisión de estas cepas a los paciente es probable que ocurra durante la rutina de cuidado del paciente, exposición de los cuidados de la salud en hospitales, estancias en áreas hospitalarias de largos periodos, procedimientos invasivos o de cirugías y hábitos de inyecciones de drogas (26).

II.7 Formulaciones magistrales

II.7.1 Geles

Gel (del latín gelu-frío, helado o gelatus-congelado, inmóvil) al referirse a los geles, se hace necesario hablar primeramente de lo que son las dispersiones coloidales, ya que los geles se encuentran dentro de esta categoría. Puede o no tener principios activos y aditivos, sólidos en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite de tal manera que se forma una red de partículas atrapadas en la fase líquida. Su modo de administración puede ser oral y externo (uso tópico). Los

geles pueden ser usados como lubricantes, analgésicos, antisépticos, para electrocardiografías, geles dentales de fluoruros, geles nasales, como excipientes para tratamiento dental, dérmico entre otros. Acrecientan la adhesividad y así mantienen durante más tiempo en contacto el principio activo o aditivo en la piel o las mucosas. Tienen gran poder de humectación, por lo tanto su evaporación y absorción puede ser controlada. Un gel es una estructura polimérica entrecruzada, que por acción de un líquido experimenta hinchamiento permaneciendo insoluble sin perder su forma original (28).

Los Geles son semisólidos que consisten en suspensiones de partículas inorgánicas pequeñas o de moléculas orgánicas interpenetradas por un líquido. Los geles de una sola fase constan de macromoléculas orgánicas distribuidas uniformemente en todo el líquido de tal manera que no existe ningún límite evidente entre las macromoléculas dispersas y el líquido, los geles de una sola fase se pueden fabricar a partir de macromoléculas naturales o sintéticas por ejemplo carbómero, hipromelosa o almidón, o con gomas naturales por ejemplo tragacanto, a estos últimos también se les conoce como mucílagos, aunque estos geles comúnmente son acuosos también se pueden emplear alcoholes y aceites como fase continua (29).

II.7.2 Gel desinfectante

En el mercado nacional, los productos con fines antibacteriales o desinfectantes se comercializan en diferentes presentaciones, como jabones, geles, soluciones, spray o toallitas, y todas cumplen el mismo propósito: librarte de agentes dañinos. Lo que los consumidores

solemos pasar por alto es que los desinfectantes o antibacteriales son, por lo general, productos preparados que pueden contener uno o varios ingredientes activos. Geles con base de alcohol en este caso alcohol etílico que es el compuesto de uso tópico más conocido y aplicado universalmente, a raíz de su eficacia frente a ciertos virus y bacterias. En los antibacteriales comerciales se encuentra en diferentes concentraciones, desde 60 hasta 90%. Una condición particular del etanol es que si se usa en una solución pura al 100%, carece casi por completo de acción germicida. Sí, el alcohol debe estar diluido para tener efecto. Se ha demostrado que la solución más efectiva es al 70% de alcohol. Muchos de los geles antibacteriales que se comercializan en el mercado usan el alcohol como ingrediente activo en los porcentajes recomendados. También se fabrican algunos geles antibacteriales que contienen alcohol del tipo isopropílico, el cual es utilizado de igual forma para uso tópico (en piel), en concentraciones del 70%, con una efectividad equivalente a la del etanol. De igual forma, encontramos en el mercado productos como toallitas o sprays que utilizan al alcohol como ingrediente activo. Las bacterias son altamente susceptibles al alcohol, pues afecta a sus proteínas, rompiendo su membrana celular o dañando su estructura, con lo que tiende a producir su muerte. Los virus también son sensibles al alcohol, pero en ellos los efectos son más variables.

La forma de uso de los geles para manos es ponerse una porción en la palma de la mano y frotarse ambas manos para distribuir el producto en dorso, palmas, y dedos, dejar secar libremente, ya que sus componentes son muy volátiles (30).

El gel por ser aplicado en la piel hay que tener en consideración su pH ya que todo disturbio duradero del valor de pH ácido de la superficie de la piel restringe la multiplicación de la microbiota normal, favoreciendo la producción de infecciones por agentes patógenos. Un factor importante en este manto ácido, como su nombre ya lo indica, es el pH, valor que también influye en variadas patologías de nuestra piel. El pH cutáneo varía entre 4,5 y 5,9 en la superficie (31).

La naturaleza también desinfecta, los productos naturales pueden contener propiedades desinfectantes. Investigaciones recientes han revelado el poder desinfectante de los aceites esenciales purificados a partir de hierbas de uso tradicional, como el tomillo y el orégano. El tomillo es una planta nativa de la Europa mediterránea ampliamente cultivada como hierba culinaria, aunque también ha sido utilizada como planta medicinal por cientos de años; principalmente como antiséptico, para enfermedades respiratorias y desórdenes digestivos. El principal componente del aceite esencial de tomillo es el timol, que ha sido extensamente documentado por su acción antibacterial, antiviral y fungicida. Por su parte, el aceite de orégano se conoce como carvacrol y resulta ser un antiséptico potente; elimina bacterias, hongos, parásitos y virus. Los aceites esenciales de estas dos plantas, ricos en timol y carvacrol, han demostrado eficacia antibacteriana (30).

III PARTE EXPERIMENTAL

III.1 Materiales, cepas bacterianas, equipos y reactivos

III.1.1 Material de laboratorio

Probeta

Matraz Erlenmeyer

Beakers

Baguetas

Embudo de vidrio

Tubos de ensayo

Micropipetas

Frascos de vidrio color ambar

Secadora de mano

Pinza de madera

Papel sílicagel G

Papel Whatman # 1

Papel Kraft

Papel de aluminio

Cocinilla eléctrica

Olla pequeña

Soporte metálico

Tapones de algodón

Hisopos

Tira indicadora de esterilización

Placas Petri descartables de 90x15 mm

Sacabocado

Asa de Kolle

Mechero de Bunsen

Tazones de vidrio de diferentes tamaños

Colador de malla fina

Envase de plástico con tapa de botón a presión de 100 ml

III.1.2 Equipos

Estufa marca Ovens

Molino de cuchillas Grindomix malla 120

Autoclave marca Shenan LDZX-50KBS

Balanza semianalítica Denver Instrument XP-300

Incubadora MIM LP-104

Viscosímetro Brookfield DV-E

Microscopio Beltec modelo OOE128

III.1.3 Reactivos

Alcohol etílico al 96% y 70%

Agua destilada

Ácido sulfúrico concentrado

Ácido clorhídrico concentrado y 1 N

Hidróxido de sodio diluido

Anhídrido acético Q.P.

Magnesio metálico en virutas

Hidróxido de Amonio concentrado

Cloroformo

Metanol

Reactivo de Mayer

Reactivo de Popoff

Reactivo de Dragendorff

Reactivo de Liebermann-Burchard

Reactivo de Shinoda

Reactivo de Borntragër

Cloruro de sodio QP

Caldo Cerebro Corazón (BHI)

Agar Mueller Hinton (MH)

Dimetilsulfóxido (DMSO)

Manitol salado

Carbopol

Glicerina pura

Trietanolamina (TEA)

BD Braird Parker Agar

BD Plasma de Conejo con EDTA

BD Test Agar DNAsa

Peroxido de Hidrógeno al 30%

Violeta de genciana

Alcohol etílico 95%-acetona

Safranina

Lugol

III.1.4 Cepas bacterianas

Cepa de *Staphylococcus aureus* aislada de fosas nasales

Cepa de *Staphylococcus aureus* clínicas

Cepa de *Staphylococcus aureus* subsp. aureus ATCC 25923

III.1.5 Material Botánico

Se utilizó la planta *Senecio rhizomatus* Rusby denominada “Llancahuasha”, adquirida en Chavín de Huántar del distrito de Huari departamento de Ancash.



Figura 1: Planta completa de “Llancahuasha” *Senecio rhizomatus* Rusby

III.2 Diseño Experimental

III.2.1 Recolección de la especie y determinación taxonómica

La planta completa conocida por los pobladores de la zona como “Llancahuasha” se recolectó en el Parque Nacional Huascarán, en el distrito de Chavín de Huántar, provincia de Huari, departamento de

Ancash, en el mes de Abril del año 2015. La metodología para la selección de la planta fue sobre la base de la etnobotánica y etnofarmacología (23).

La determinación taxonómica se hizo en el Museo de Historia Natural de la UNMSM en donde utilizando el sistema de clasificación de Cronquist; se determinó como: “*Senecio rhizomatus*” Rusby. “Llancahuasha”.

III.2.2 Estabilización de las hojas

Se utilizó las hojas de *S. rhizomatus* (figura 2), ya que en ellas se concentra la mayor cantidad de principios activos (1,16). Se lavó las hojas con agua corriente de caño, se desecó al medio ambiente luego se prosiguió con el desecado en estufa marca Ovens, por un espacio de 48 horas a 40 °C (16).



Figura 2: Hojas secas de “Llancahuasha” *Senecio rhizomatus* Rusby

III.2.3 Molienda

Se obtuvo 120 g de hojas desecadas con las cuales se realizó la molienda; en molino de cuchillas Grindomix malla 120, hasta obtención de polvo fino. La cantidad obtenida fue de 100 g de color verde con olor característico.

III.2.4 Preparación del extracto

La maceración se inició con 100 g de polvo fino de hojas de *Senecio rhizomatus*, se colocó en frasco de 2L de capacidad color ámbar con 850 mL de alcohol etílico al 96%. Se dejó bajo condiciones de oscuridad y temperatura ambiental por 7 días. Cumplido este tiempo se procedió a realizar el filtrado en embudo con papel whatman # 1. El volumen obtenido fue de 800 mL, este se trasvasó en frasco de vidrio color ambar de 1 L de capacidad.

Con el filtrado se procedió a realizar la marcha fitoquímica y la determinación de metabolitos secundarios luego del cual el extracto restante fue llevado a estufa para el desecado.

El desecado del extracto etanólico se realizó en un recipiente limpio de plástico en estufa a 40 °C de temperatura hasta peso constante procediendo a realizar las pruebas microbiológicas (32).

III.2.5 Marcha Fitoquímica y determinación de metabolitos secundarios

Para la marcha fitoquímica preliminar se realizaron pruebas de color y/o precipitación y Cromatografía en Capa Fina (CCF) para la determinación de alcaloides, utilizando técnicas propuestas por Dominguez y Lock (19 y 32).

Para evaluar antraquinonas se utilizó Rvo. de Borntragër; para evaluar saponinas se utilizó índice afrosimétrico o prueba de la espuma; para evaluar flavonoides se utilizó reactivo de Shinoda; para la determinación de alcaloides se realizó pruebas en tubo con reactivos de Mayer, Popoff, Dragendorff y cromatografía en capa fina (CCF) usando Rvo. Dragendorff como revelador, todo lo cual se indica en la figura 3.

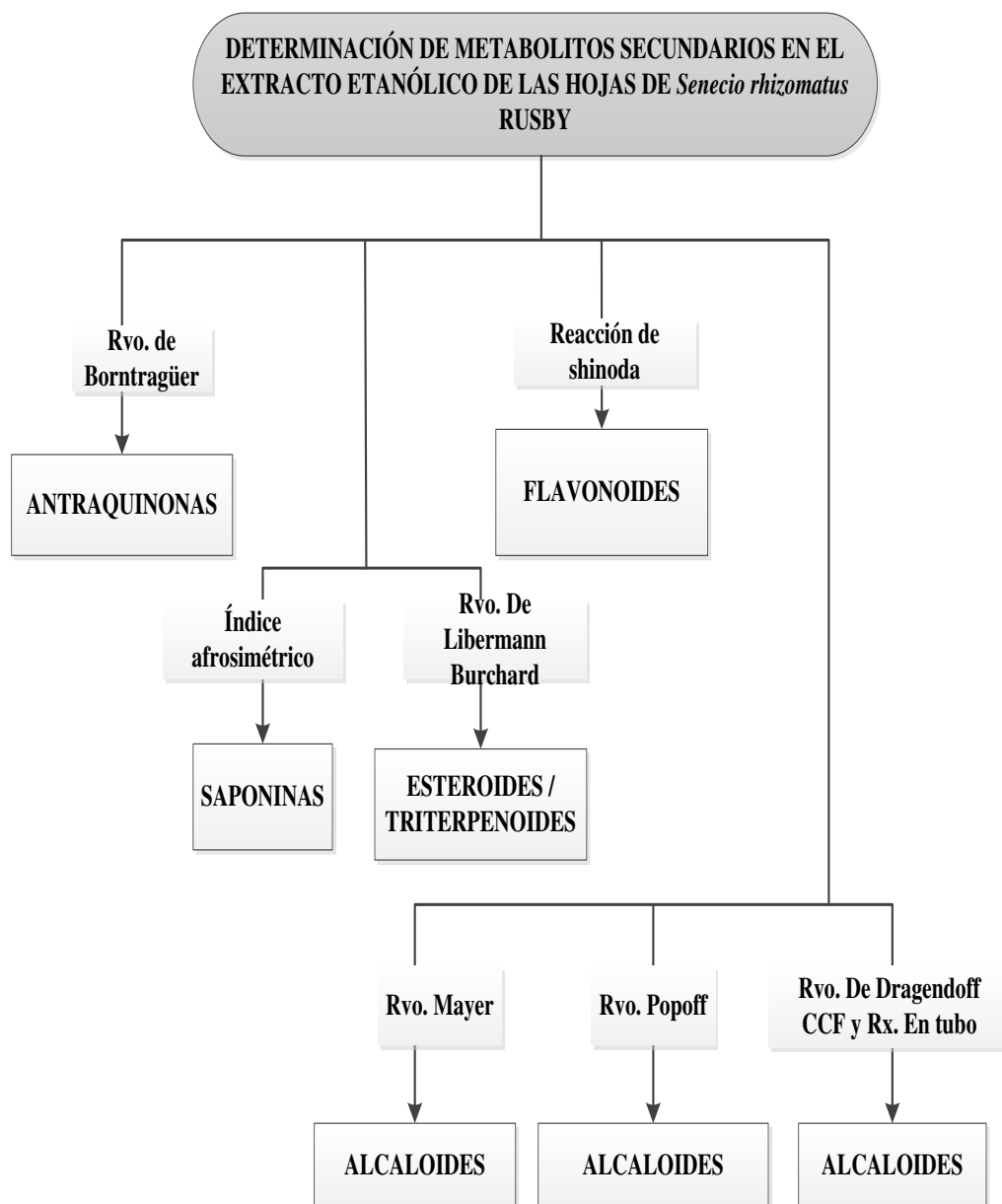


Figura 3: Diagrama de Flujo para la Determinación de Metabolitos Secundarios

Para llevar a cabo la determinación de metabolitos secundarios que presentamos en el diagrama anterior; a continuación detallamos los reactivos reveladores utilizados.

Reactivo de Börntrager: Reactivo que detecta grupos antraquinónicos y puede practicarse directamente sobre una porción del vegetal molido y seco. Consiste en agregar una solución alcalina en nuestro caso a 5 g de hojas secas se le agregó 8 gotas de Na(OH) diluido, la aparición de coloración roja indica la presencia de estos grupos.

Índice afrosimétrico o prueba de la espuma: Este ensayo permite detectar la presencia de saponinas sustancias con propiedades tenso activas, a través de la formación de espuma persistente (durante 15 min). Para la determinación de saponinas se evaporó 10 mL del extracto etanólico a sequedad luego se agregó 2 mL de agua destilada, se agitó vigorosamente por 30 segundos. El resultado positivo se evidencia por presencia de espuma de 1 cm de alto que debe durar mínimo 20 min.

Reacción de Shinoda: se colocó 20 gotas del extracto etanólico en un tubo de ensayo, se agregó 2 a 3 virutas de Magnesio metálico y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. Se observó el cambio de coloración que varía del amarillo a pardo.

Reactivo de Mayer: Se emplea para la caracterización no específica de alcaloides, la mayoría de los alcaloides reaccionan dando un precipitado blanco o amarillo claro, amorfo o cristalino que es una sal compleja puede disolverse posteriormente en algún solvente menos

polar para su identificación. Está compuesto por Cloruro de mercurio y yoduro de potasio.

Reactivo de Popoff: Solución saturada de ácido pícrico, se observa precipitado amarillo lo cual indica resultado positivo.

Reactivo de Dragendorff; Constituido por yoduro doble de bismuto y potasio que reacciona con compuestos que tengan pares de electrones no compartidos como el nitrógeno, como es el caso de los alcaloides, formando sales dobles que se visualizan por la aparición de un precipitado anaranjado marrón (33).

Se utilizó CCF para la determinación de alcaloides, como adsorbente papel Sílicagel G, solvente cloroformo metanol (9:1) y revelador Rvo. Dragendorff; la observación de mancha color naranja evidencia presencia de alcaloides (32).

Reactivo de Liebermann-Burchard: Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides. Mezcla en partes iguales de anhídrido acético y ácido sulfúrico que sirve para revelar la presencia de compuestos orgánicos como saponinas triterpenoidales dan color rosado o púrpura, mientras que las esteroidales dan coloración azul verdoso (34).

III.2.6 Determinación fenotípica de las cepas *S. aureus* ATCC, hospitalaria y de la comunidad

Para la determinación fenotípica de la cepa de *S. aureus* ATCC 25923, cepa de *S. aureus* comunitaria y cepa *S. aureus* hospitalaria se les realizó el método de coloración de Gram, aquellas colonias que

presentaron morfología microscópica de cocos Gram positivos se les realizó pruebas de coagulasa en tubo, catalasa, siembra en Agar Manitol Salado, prueba de DNAsa y siembra en Agar Baird Parker.

La coagulasa detectada con este método forma un coágulo visible considerándosele como prueba positiva.

La catalasa, descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, el desprendimiento de burbujas procedentes del oxígeno, indica que la prueba es positiva.

En la siembra de colonias en Agar Manitol Salado los estafilococos positivos a la coagulasa por ejemplo *S. aureus*, producen colonias de color amarillo y un medio circundante de color amarillo mientras que los estafilococos negativos a la coagulasa producen colonias de color rojo y no producen cambio en el indicador rojo fenol.

En la prueba de DNAsa después de la aplicación y penetración del ácido clorhídrico en el medio, los organismos positivos a la DNAsa, tal como el *S. aureus*, estarán rodeadas de zonas transparentes de ADN despolimerizado y las colonias de organismos con resultados negativos a la DNAsa no presentarán zonas transparentes alrededor de las colonias.

En la siembra en Agar Baird Parker, en la prueba positiva se producen colonias de color gris oscuro a negro debido a la reducción del telurito, producen lecitinasa descomponiendo la yema de huevo y crean zonas transparentes alrededor de las colonias correspondientes y es posible que se forme una zona de precipitado debido a la actividad de la lipasa (35).

III.2.7 Determinación del efecto antimicrobiano *in vitro*

III.2.7.1 Aislamiento e identificación de las cepas de *S. aureus*

Se trabajó con cepa clínica hospitalaria. La obtención de esta cepa fue de hemocultivo de paciente hospitalizado en el servicio de Medicina Interna del Hospital Nacional Arzobispo Loayza. La muestra fue procesada dentro de las 24 h.

La obtención de la cepa comunitaria fue de muestras nasales de individuos provenientes de la comunidad; alumnos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica y sin contacto hospitalario previo utilizando para ello hisopos de algodón estériles. El hisopo se rotó dentro de las fosas nasales tres veces en sentido de las agujas del reloj y tres veces en sentido contrario; se colocó en medio líquido BHI con 3% de cloruro de sodio, se incubó a 35°C por 24 h. Ambas muestras se sembraron en placas de agar manitol salado y se incubaron a 35°C por 24 a 48 h, posteriormente a la incubación las colonias manitol sal positivas se cultivaron en agar nutritivo a 35°C por 24 a 48 h, al término de las cuales se realizaron extendidos que fueron coloreados con Gram, aquellas colonias que presentaron morfología microscópica de cocos Gram positivos, se les realizó prueba de catalasa, coagulasa y DNAsa, siembra de colonias en Agar Baird Parker; se utilizó una cepa de *S. aureus* ATCC N° 25923 para la identificación como cepa control. (Anexos 3, 4, 5 y 6) (36).

3.2.7.2 Formulación del Gel antibacterial

Se preparó 2 formulaciones de gel antibacterial con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby, las concentraciones fueron de 12,5 y 25 mg/mL respectivamente. Adicionalmente se preparó una formulación de gel base es decir; sin extracto etanólico ni alcohol que sirvió como control negativo.

Composición

Con 1,25 g de muestra

- Alcohol etílico de 70°90 mL
- Desecado de hojas de *S. rhizomatus* Rusby.....1,25 g
- Carbopol0,8 g
- Glicerina1,2 mL
- Trietanolamina (TEA).....8 gotas
- Alcohol etílico 70°.....c.s.p. 100 mL

Con 2,5 g de muestra

- Alcohol etílico de 70 °90 mL
- Desecado de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby.... 2,5 g
- Carbopol.....0,8 g
- Glicerina1,2 mL
- Trietanolamina (TEA).....8 gotas
- Alcohol etílico de 70°.....c.s.p. 100 mL

Procedimiento

1. Sobre un beaker, se colocó un colador de malla fina, se vertió el carbopol (es el que le dará la consistencia gelatinosa a nuestro producto), sobre el colador se trituraron los grumos homogenizándolos a partículas finas con ayuda de una cucharita.
2. Se colocó 90 mL de alcohol etílico 70° + 1,25 g de desecado de hojas de *Senecio rhizomatus* en un beaker. Por otro lado 90 mL de alcohol etílico 70° + 2,5 g de desecado de hojas de *Senecio rhizomatus* en otro beaker; se disolvió por completo estas sustancias, luego agitando fuertemente con una bagueta, se agregó poco a poco a cada uno de los beakers, el carbopol previamente pulverizado y colado.
3. Para darle un aspecto y sensación más agradable al gel al ser utilizado en las manos, se agregó glicerina (agente humectante) a cada formulación mientras agitamos suavemente.
4. Se agregó la trietanolamina (regulador de pH) gota a gota a cada formulación agitando suavemente.
5. Se trasvasaron los geles en probetas; cada una de las formulaciones se completó a 100 mL de volumen con alcohol etílico de 70°, se homogenizó y trasvasó a frascos de plástico con tapa hermética.

III.2.7.3 Evaluación del efecto antimicrobiano

Se utilizó el método de difusión en pozo de agar, esta prueba se basa en la inhibición del crecimiento bacteriano, mediante la difusión de sustancias activas en un medio sólido, y posteriormente se evidencia por la formación de halos claros de inhibición. Para ello se utilizaron placas Petri estériles descartables de 90x15 mm, las cuales fueron preparadas con agar Mueller Hinton (MH) (Merck) y sembradas por el método de incorporación con cepa hospitalaria y de la comunidad de *S. aureus*. Se agregó 1 mL de suspensión del inóculo (3×10^8 UFC/mL) por cada 100 mL de medio de cultivo, se mezcló asepticamente, luego se repartió en las placas a razón de 20 mL por placa y se dejó solidificar. Una vez que el agar solidificó se hicieron pozos con la ayuda de un sacabocado de 11 mm de diámetro externo, se agregaron 100 μ L de los geles formulados; luego de 15 minutos de reposo las placas fueron incubadas a 35 °C por 24 a 48 h. Se utilizó gel base (sin alcohol) como control negativo y gel comercial como control positivo “puro clean” (Alcohol gel natural) de laboratorios Portugal S.R.L. cuya composición es: agua, alcohol, propilenglicol, trietanolamina y carbopol. Los ensayos se llevaron a cabo por triplicado. La lectura e interpretación de los resultados se realizó por la observación de zonas claras de inhibición del crecimiento, mediante el registro de los diámetros en mm. Se consideró tener efecto antimicrobiano *in vitro* significativo a un halo de inhibición (HI) mayor o igual a 18 mm a concentración de 25 mg/mL (37), método adaptado ya que en la referencia se usan extractos puros.

IV Resultados

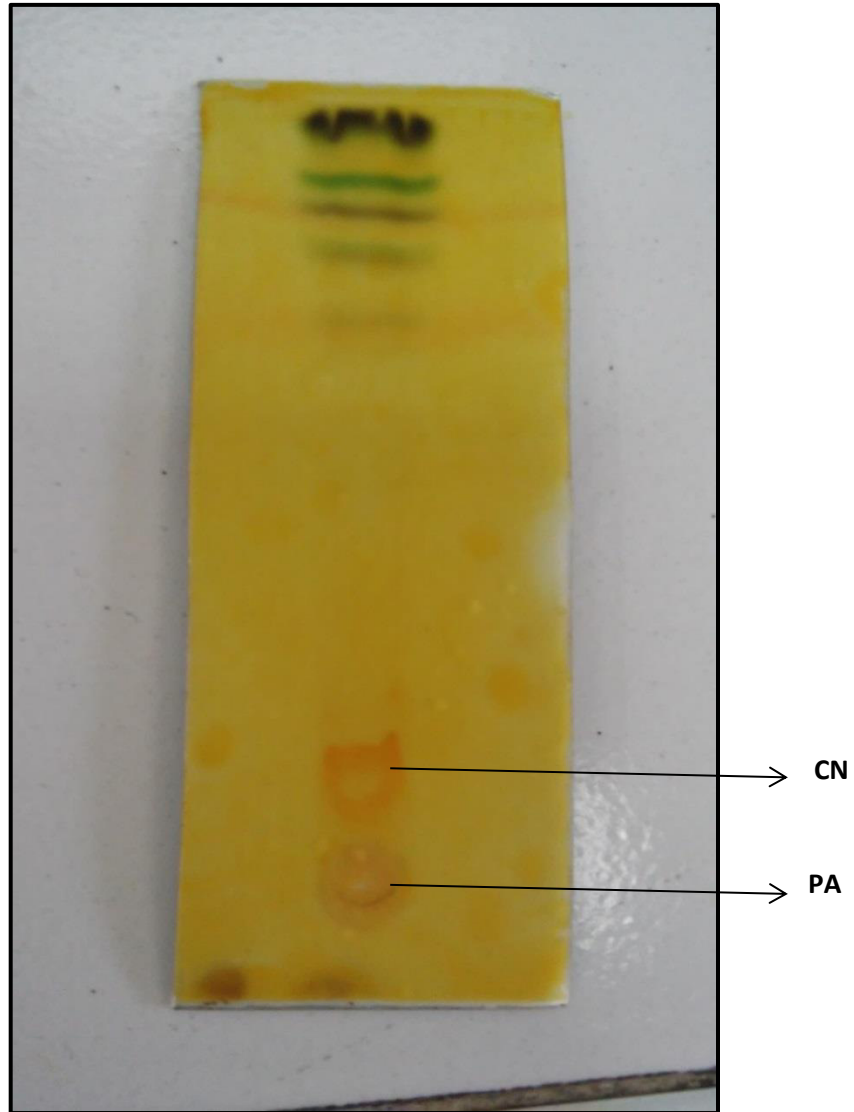
Se encontraron los siguientes resultados cualitativos en la determinación de metabolitos secundarios que se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Metabolitos Secundarios y Reacciones de coloración en el extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby

Reactivo	Metabolito Secundario	Características	Calificación
Rvo. Borntrager	Antraquinonas	Coloración rojiza	--
Reacción de Shinoda	Flavonoides	Coloración rojo pardo	++
Prueba de Espuma	Saponinas	Formación de espuma más de 1 cm de alto y que dura 1 h	+++
Rvo. Liebermann-Burchard	Esteroides	Coloración azul verdoso	+
Rvo. Dragendorff	Alcaloides	Precipitado anaranjado marrón	++
		CCF Mancha naranja	++
Rvo. Mayer		Precipitado blanquecino	++
Rvo. Popoff		Precipitado amarillo	++

Resultado positivo: +++, regular++, mínimo+, negativo –

CCF: Cromatografía en capa fina



Solvente: Cloroformo:Metanol (9:1)

Revelador: Rvo. Dragendoff

Fase estacionaria: Sílicagel G

CN = Coloración Naranja que indica presencia de alcaloides

PA = Punto de Aplicación

Figura 4: Cromatograma ascendente en Salicagel G, para la detección de alcaloides

Las pruebas fenotípicas se realizan en las cepas de *S. aureus* aisladas de fosas nasales, de la comunidad, cepa clínica y cepa ATCC 25923 que servirá como control. Los certificados de los reactivos para las pruebas catalasa, coagulasa y siembra en Agar Baird Parker se encuentra en Anexos 4, 5, 6.

Los resultados del aislamiento e identificación de cepas de *S. aureus* se muestran en la tabla 3.

Tabla 3: Pruebas fenotípicas de cepas ATCC, hospitalaria y la comunidad de *S.aureus*

Pruebas Fenotípicas	Cepa Hospitalaria	Cepa Comunitaria	Cepa ATCC 25923
Tinción Gram	Cocos Gram positivos	Cocos Gram positivos	Cocos Gram positivos
Crecimiento en agar Manitol Salado	Colonias amarillas rodeadas de halo amarillo	Colonias amarillas rodeadas de halo amarillo	Colonias amarillas rodeadas de halo amarillo
Crecimiento en agar Baird Parker	Colonias de color gris oscuro a negro con zona transparente alrededor de estas y zona de precipitado	Colonias de color gris oscuro a negro con zona transparente alrededor de estas y zona de precipitado	Colonias de color gris oscuro a negro con zona transparente alrededor de estas y zona de precipitado
Enzima DNAsa	+	+	+
Prueba de Catalasa	+	+	+
Prueba de Coagulasa	+	+	+

+ = Prueba positiva

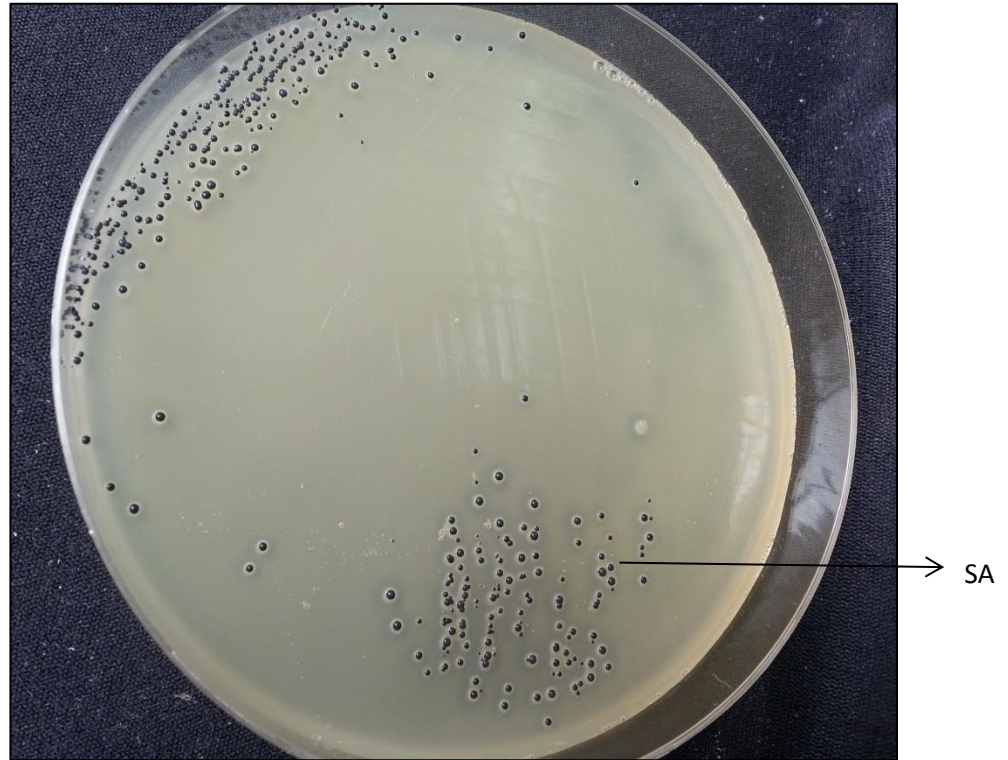


Figura 5: Prueba de Identificación Fenotípica
Colonias de *S. aureus* de la comunidad sembradas en Agar Baird
Parker (También llamado Agar huevo-telurito-glicina-piruvato
ETGPA)

Agar Baird Parker, medio utilizado para el aislamiento de *S. aureus* (SA); utiliza la capacidad de las bacterias *S. aureus* de reducir el telurito a telurio y detectar la lecitinasa a partir de la lecitina del huevo.

SA = Las bacterias *S. aureus* producen colonias de color gris oscuro a negro y se crean zonas transparentes alrededor de estas con zona de precipitado

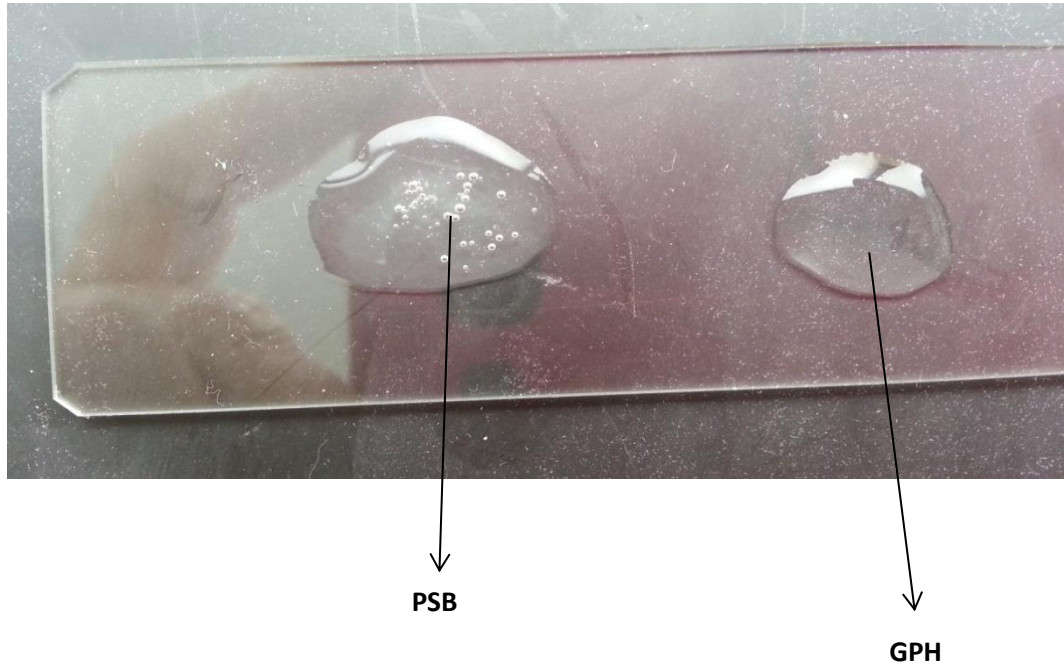


Figura 6: Prueba e identificación fenotípica

Prueba Catalasa positiva frente a cepa comunitaria de *S. aureus* y

Prueba control negativa

PSB: Producción Sostenida de Burbujas de gas o efervescencia,
indica una prueba de enzima catalasa positiva.

GPH: Gotas de Peróxido de Hidrógeno al 30%, prueba control
negativa.

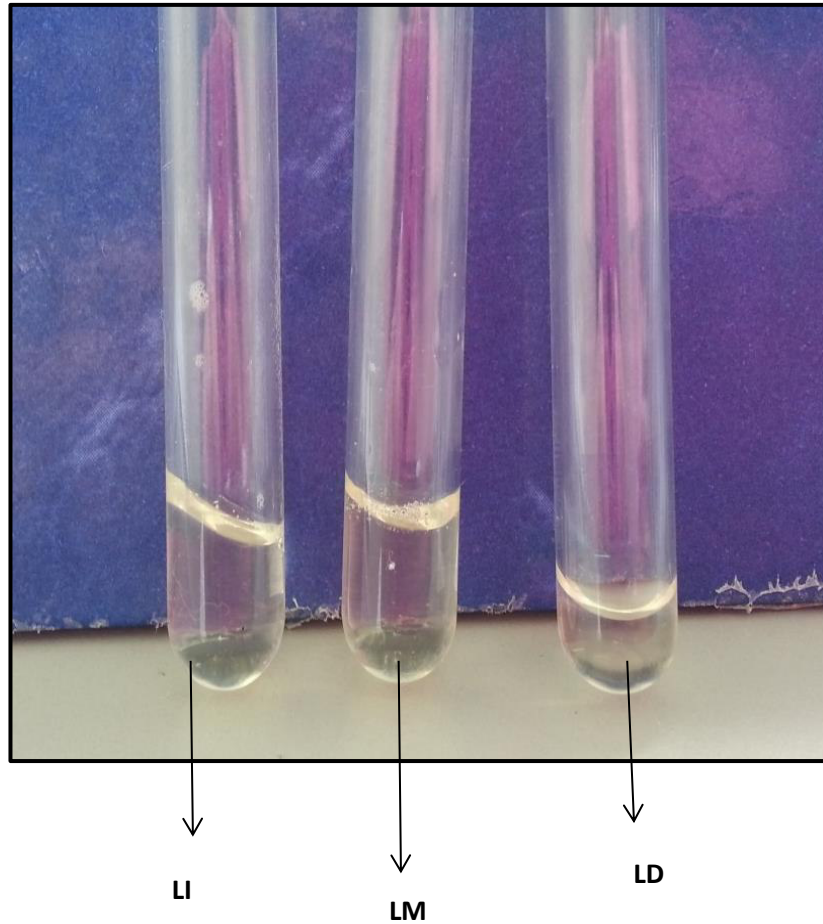


Figura 7 Prueba coagulasa en tubo frente a cepa comunitaria y hospitalaria de *S. aureus* y control negativo.

LI: Lado Izquierdo; cepa de *S. aureus* aislada de la comunidad sometida a prueba coagulasa en tubo, muestra coágulo que indica resultado positivo

LM: Lado Medio; cepa de *S. aureus* hospitalaria, sometida a prueba coagulasa en tubo, muestra coágulo que indica resultado positivo

LD: Lado Derecho; no hay formación de coágulo, la suspensión permanece homogénea, control negativo

Los resultados de las características organolépticas, viscosidad y pH del gel antibacterial, preparado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby “Llancahuasha” se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Características de los geles antibacteriales y gel base

Características Organolépticas, viscosidad y pH	Gel base	Gel base + 12,5 mg/mL de extracto etanólico	Gel base + 25 mg/mL de extracto etanólico
Aspecto	Gelatinoso	Gelatinoso	Gelatinoso
Color	Trasparente	Marron	Marron oscuro
Olor	Sin olor	Hojas secas y alcohol	Hojas secas y alcohol
Viscosidad	10.000 cps	10360 cps	11000 cps
pH	5,5	6	6

Especificaciones para la preparación de los geles (30).

Color: Gel incoloro y transparente

pH: 5,5 a 6,5

Viscosidad: 10000-20000 cps

Los resultados de la actividad antimicrobiana del gel elaborado con extracto de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby se muestran en la tabla 5 y las imágenes correspondientes.

Tabla 5: Halos de inhibición de los geles elaborados frente a cepas de *S. aureus* hospitalaria y comunitaria

Geles	Halo de inhibición en (mm) frente a cepa hospitalaria de <i>S. aureus</i>	Halo de inhibición en (mm) frente a cepa comunitaria de <i>S. aureus</i>
Gel base	--	--
Gel Comercial	12 mm	13 mm
Gel base + 12,5 mg/mL extracto etanólico	13 mm	15 mm
Gel base + 25 mg/mL del extracto etanólico	18 mm	20 mm

El gel base más extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* a concentración de 25 mg/mL, mostró actividad significativa frente a cepa de *S. aureus* aislada de la comunidad con halo de inhibición de 20 mm; figura 8. Esta misma concentración mostró actividad significativa frente a cepa hospitalaria de *S. aureus* con halo de inhibición de 18 mm. Se define actividad significativa a la zona de inhibición mayor o igual a 18 mm a concentración de 25 mg/mL (37).

El gel base más el extracto etanólico de hojas de *S. rhizomatus* a concentración de 12,5 mg/mL mostró actividad frente a cepa de *S. aureus* aislada de la comunidad con halo de inhibición de 15 mm y con cepa de *S. aureus* hospitalaria mostró halo de inhibición de 13 mm. Figura 9. Para el gel comercial utilizado como control positivo frente a cepa de *S. aureus* aislada de la comunidad mostró halo de inhibición de 13 mm; figura 10. En la tabla 5 podemos ver que los halos de inhibición del gel base más extracto etanólico de hojas de *S.*

rhizomatus son mayores que el que mostró el gel comercial. El gel base sin extracto ni alcohol no muestra actividad; figura 11.

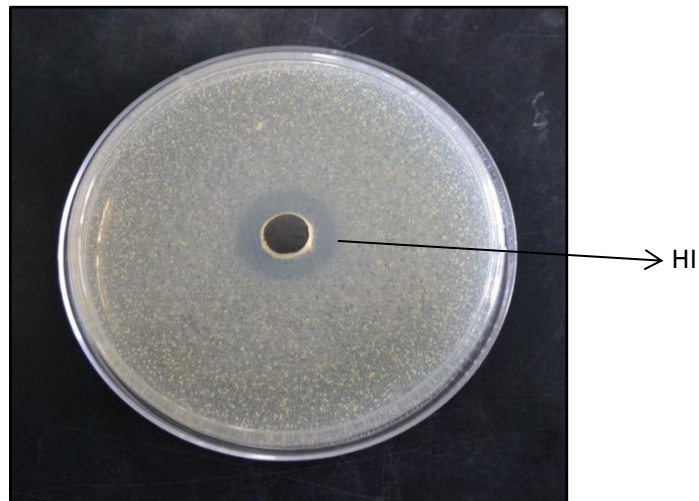


Figura 8

HI : Halo de Inhibición de 20 mm del gel base + 25 mg/mL de extracto etanólico frente a cepa comunitaria de *S. aureus*

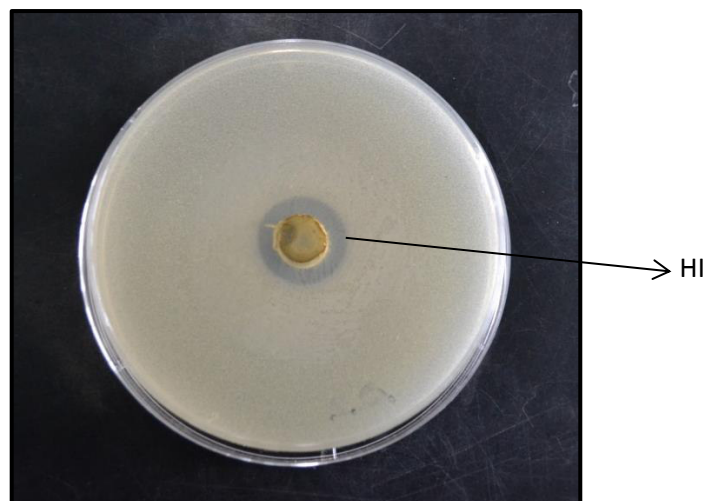


Figura 9

HI: Halo de Inhibición de 15 mm del gel base + 12,5 mg/mL de extracto etanólico frente a cepa comunitaria de *S. aureus*

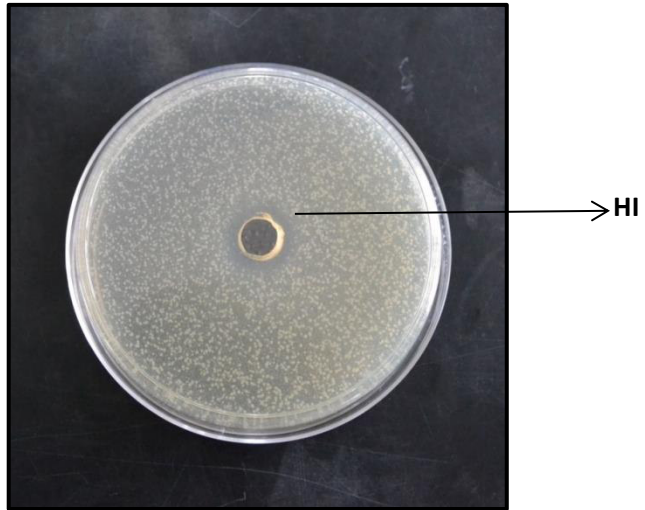


Figura 10
HI: Halo de Inhibición de 13 mm de gel comercial
frente a cepa comunitaria de *S. aureus*

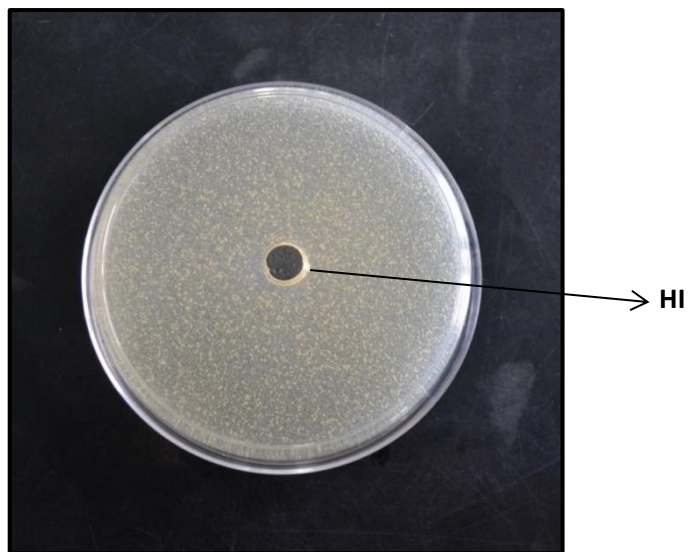


Figura 11
HI: Gel base sin alcohol ni extracto. No presenta halo de inhibición frente a
cepa comunitaria de *S. aureus*

V Discusión

En nuestro estudio evaluamos el efecto antimicrobiano de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *S. rhizomatus* Rusby, frente a cepas de *S. aureus*, se mostró actividad significativa. En estudio realizado en la UNALM por Tamariz y colaboradores se observó que el extracto hidroalcohólico mostró actividad antimicrobiana frente a cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. faecalis*, y *Bacillus cereus*, todas son Gram-positivas, no presentan actividad frente a las bacterias Gram negativas en estos ensayos además de *S. rhizomatus* Rusby se utilizó otras especies de *Senecio* como *S. calvus*, *S. comosus*, *S. klattii*, *S. chilensis*, *S. otites* y *S. tephrosioides* (1).

En el presente trabajo el solvente empleado para la extracción de metabolitos activos de las hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby fue el etanol. Con el extracto etanólico se formularon geles antimicrobianos a concentraciones de 12,5 y 25 mg/mL que tiene actividad frente a cepas hospitalarias y de la comunidad de *S. aureus*. Este resultado podría comprobar la aplicación de la decocción de las hojas, el cataplasma de las mismas para curar heridas y el uso de la tintura para controlar los forúnculos y el acné (4,5).

Existe una tendencia a recuperar los productos naturales para varios tipos de industrias, la tendencia “verde” se ha expandido y la industria farmacéutica no es ajena a inclinarse por ella. Por tal motivo se viene trabajando en encontrar la evidencia científica que avale el uso

folklórico que se le da con éxito a plantas medicinales, como en este caso la formulación de un gel antibacterial (14).

Senecio rhizomatus Rusby, es conocida y reconocida por su uso folklórico como medicinal. Mediante este estudio se comprobó su acción antibacteriana con la formulación del gel antibacterial elaborado con extracto etanólico de hojas de *S. rhizomatus* frente a cepas de *S. aureus* aisladas de la comunidad y hospitalarias. De igual forma en investigación realizada por Vega y López con la especie *Senecio sublutescens* obtenida del Parque Nacional Huascarán que no tiene reportes en la literatura sobre los usos medicinales pero si es una especie endémica del Perú, se determinó su acción antimicrobiana utilizando para ello tallos y hojas de la planta. Se observó actividad frente a *S. aureus* (ATCC 25923) con los tallos de la planta y al utilizar las hojas además se observó que presenta acción frente a *B. subtilis* (ATCC 11774). Una posible razón de esta mayor inhibición se podría atribuir a que las hojas acumulan mayores concentraciones de metabolitos secundarios por lo cual permite inhibir o reducir el crecimiento de mayor número de microorganismos (16).

La actividad antibacteriana que se evaluó en el presente trabajo, podría deberse a los efectos separados o sinérgicos de flavonoides, alcaloides, esteroides, terpenoides, etc. reportados para el Género *Senecio*, por ejemplo; los terpenoides tienen actividad sobre los microorganismos por que alteran su estructura y función de la membrana citoplasmática y los flavonoides actúan como bacteriostáticos por que inhiben la síntesis del ácido nucleico, dañan la membrana bacteriana e inhiben su metabolismo energético (16).

En el extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby se determinaron mediante reacciones de coloración y/o precipitación y cromatografía en capa fina (CCF) flavonoides, saponinas esteroidales y alcaloides, estos resultados concuerdan con el extracto en éter de petróleo en aparato soxhlet, de polvo de rizomas de *Senecio fistulosus* elaborado por González en el que se encontró los mismos metabolitos secundarios además de cumarinas (21).

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en un gran problema de salud pública, ante lo cual, los extractos vegetales con acción antibacteriana pueden ser capaces de burlar los mecanismos de resistencia actuales, representan una importante alternativa para su uso clínico en el tratamiento de enfermedades infecciosas. El uso de extractos vegetales a nivel hospitalario es limitado, las bacterias no han desarrollado mecanismos de resistencia en su contra, entonces es posible que los extractos vegetales y aceites esenciales puedan inhibir el crecimiento de cepas resistentes y multi resistentes (33).

En el presente trabajo se comprueba la actividad antibacteriana significativa del gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *S. rhizomatus* Rusby, de igual forma con el extracto etanólico de las hojas de *Piper lineatum* (L.) e *Ilex guayusa* mostró actividad significativa frente a *Staphylococcus aureus* (37).

En el presente trabajo se aprovecha la actividad antimicrobiana presentada por la especie en estudio para la formulación de un gel antimicrobiano ya que la utilización de productos naturales es cada

vez más extendido y el tratamiento de enfermedades bucales no es la excepción y va en aumento, puede ser aprovechada para el uso casero principalmente en poblaciones de bajos recursos, es así que se elabora un gel conteniendo extracto de aruera al 10% para el tratamiento de la gingivitis (38).

En los hallazgos en la marcha fitoquímica preliminar del extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby se determinaron alcaloides, flavonoides y saponinas esteroidales así como ausencia de antraquinonas, de la misma manera Baldoceda en el año 1996, analizó *S. rhizomatus* colectado en tres regiones del país, reportó que entre sus hallazgos la presencia de alcaloides y flavonoides y ausencia de quinonas, siguiendo un esquema fitoquímico según Lock lo cual coincide con nuestro estudio (39).

Con respecto a la formulación de los geles a las diferentes concentraciones se utilizó carbopol, trietanolamina, glicerina, extracto etanólico de hojas de *S. rhizomatus* a la concentración de 25 mg/mL con la cual presenta actividad significativa frente a cepa hospitalaria de *S. aureus* con halo de inhibición de 18 mm, a esta misma concentración presenta actividad significativa frente a cepa comunitaria de *S. aureus* con halo de inhibición de 20 mm. De igual forma aprovechando su acción antimicrobiana se formuló un gel para el uso en heridas abiertas con extracto acuoso de la especie *Tinospora cordifolia*, utilizando para ello carbopol, tween 80, trietanolamina, e hidróxido de sodio para llevar a pH básico, el cual muestra máxima actividad frente a *B. subtilis* y *P. aeruginosa* (40).

Las plantas medicinales son conocidas por contener enorme potencial terapéutico y potenciales efectos antimicrobianos novedosos es así que en el gel base más 12,5 mg/mL de extracto etanólico de *S. rhizomatus* muestra actividad frente a cepa hospitalaria de *S. aureus* con halo de inhibición de 13 mm, mientras que con cepa comunitaria de *S. aureus* muestra actividad con halos de inhibición de 15 mm. Aprovechando estos efectos antimicrobianos se extrae los aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum*, *Rosmarinus officinalis*, *Melaleuca alternifolia*, *Berberis aristate*, *Azardirachta indica* oriundas de la India, utilizando los aceites esenciales se elaboran geles antimicrobianos contra el acné mostrando actividad frente a *P. acnés* y *S. epidermidis* (41).

VI Conclusiones

Como resultado de esta investigación,

- Se obtuvo el extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby
- Se realizó el estudio fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby, siendo los hallazgos flavonoides, saponinas esteroidales, y alcaloides no encontrando antraquinonas.
- Se elaboró un gel antibacteriano, que cumplió con características físicas y organolépticas aceptables con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby a concentraciones de 12,5 y 25 mg/mL
- Se determinó el efecto antibacteriano *in vitro* del gel formulado.

VII Recomendaciones

- Teniendo esta planta efecto antimicrobiano se recomienda hacer estudios de concentración mínima inhibitoria con cepas aisladas de la comunidad y cepas hospitalarias.
- En vista de que se elaboró un gel antimicrobiano con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby, se recomienda continúen las formulaciones como cremas y ungüentos para aprovechar su efecto antimicrobiano para la aplicación en heridas, quemaduras e infecciones de la piel en general.
- Se sabe que las género *Senecio*, en algunas especies es tóxico por la presencia de alcaloides pirrolizidínicos, los cuales causan daños hepáticos, renales, pulmonares, e intestinales en humanos que lo ingieren en infusiones o macerados, estos efectos tóxicos se ven en animales que lo consumen en el acto del pastoreo; por lo cual se recomienda hacer la separación de alcaloides, cuantificarlos e identificar presencia de alcaloides pirrolizidínicos que ponen en peligro la salud al ser ingeridos.
- Utilizar la especie *Senecio rhizomatus* para evaluar componentes volátiles como el indol, b-mirceno y otros, por arrastre con vapor de agua ya que son ampliamente utilizados en la industria de alimentos como aromatizante y en la fabricación de cosméticos dándole un uso diferente al medicinal.
- Hacer las pruebas de estabilidad para los geles formulados.

VIII Referencias bibliográficas

1. Támaris C, Infantas D, Moreno P. Pruebas Fitoquímicas y Biológicas de Algunas Especies de *Senecio* del Parque Nacional Huascarán (Ancash – Perú). *Anales Científicos UNALM*. 2001; XLVII: 39-49.
2. Roersch C. Uso de plantas medicinales en el sur andino de Perú y la República Dominicana [Internet]. Instituto de Medicina Dominicana; 1994 [citado 12 de diciembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://imd-medicina-dominicana.org/Articulos%20pdf/Uso%20de%20Plantas%20Medicinales%20en%20el%20Sur%20Andino%20de%20Peru%20y%20la%20Republica%20Dominicana.pdf>
3. Yarupaitán Galván G, Albán Castillo J. Fanerógamas de la provincia de Huancayo, Perú. *Rev Peru Biol*. 2004; 11(2):193-202.
4. Linares E, Benavides MA. Flora silvestre del transecto Yurachivay, Departamento de Arequipa. *Boletín de Lima*. 1995;100:211-254
5. Puelles M, Gómez V, Gabriel JM, Moris G. *Las Plantas Medicinales del Perú etnobotánica y viabilidad comercial*. Madrid: Catarata; 2010.
6. Cabrera A. El género *Senecio* en Bolivia. *Darwiniana*. 1985; 26(1-4):119-120.
7. Jorge G. “Asteraceae”, La naturaleza Fauna y Flora. *Diarium Universidad de Salamanca*. 2010. [Recuperado el 19 Agosto

- 2015]. Disponible en:
<http://diarium.usal.es/jorgegd56/2010/10/30/asteraceae/>.
8. Brito B, Arana C. Corotipos preliminares del Perú basados en la distribución de la familia Asteraceae. *Darwiniana*. 2014; 2(1):39-56.
 9. Beltran H, Granda A, León B, Sagástegui A, Sanchez I, Zapata M. Asteraceae endémicas del Perú. *Rev Peru Biol*. 2006; 13(2):64-164s.
 10. Sagástegui A. Nuestra biodiversidad Sinopsis de las Asteraceas del Perú. 1^{ra} edición. Lima: Graficart SRL; 2009.
 11. León B, Roque C, Pitman N. Introducción a las plantas endémicas del Perú. *Rev Peru Biol*. 2006; 13(2):9-22.
 12. Huacaja E. Contribución al estudio fitoquímico y determinación de la acción antibacteriana de *Senecio candidissimus*. [Tesis maestría]. Monterrey: Universidad Autónoma de Nueva León. Facultad de Ciencias Biológicas; 1995.
 13. Montesinos D. Three new caespitose species of *Senecio* (Asteraceae) Senecioneae from South Peru. *Phyto Keys*. 2014; 39:1-17.
 14. Florian G. Evaluación de los Principios Activos de *Senecio calvus* en la formación de Biopelículas de *Pseudomona aeruginosa*. [Tesis maestría]. Lima: UNMSM. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.
 15. INEI. Anuario de Estadísticas Ambientales. Lima. 2012.
 16. Vega E, Lopez E. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcoholico de tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y

- Jungla paniculata* del Parque Nacional Huascarán (Perú) frente a cepas bacterianas de interés clínico. Rev REBIOLEST. 2013; 1(2):43-49
17. Silva H, Zevallos P, Vilcapoma G. Status de conservación de las especies vegetales silvestres de uso tradicional en la provincia de Canta Perú. Ecol Apl. 2005; 4(12):9-16
 18. Zeinsteger P, Acosta de Perez O, Teibler P, Rios E, Jorge N. Hepatotoxicidad de compuestos volátiles de *Senecio grisebachii* (primavera). Trabajo propuesto en el XII Congreso Argentino de Toxicología. 25-27septiembre 2001; Rosario, Argentina.
 19. Dominguez X. Métodos de Investigación Fitoquímica. México DF: Editorial Limusa; 1985.
 20. Quevedo F. Estudio Fitoquímico y Farmacológico del *Senecio formosus*, Rev Colom de Cienc. Q.F.1970; 3(1):45-64.
 21. Gonzalez E. Estudio Farmacológico de Senecionina alcaloide pirrolizidínico de *Senecio fistulosus* Poepp. Ex Less (Hualtata), An Real Acad Farm. 1986; 52:123-132
 22. Arellano P. El libro verde guía de recursos terapéuticos vegetales. Lima: INMETRA; 1992.
 23. Guerra L. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional. [Tesis maestria]. Monterrey: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2011.
 24. Araujo J, Salas R. Actividad antimicrobiana de plantas. Universidad Científica del Sur. 2008. [Acceso 20 de Octubre 2015]. Disponible en: <http://www.apicoladelalba.cl/actividad-antimicrobiana-de-plantas-sci/>

25. Lizcano A, Vergara J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomelis ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. [Tesis maestría]. Bogotá: Universidad Javeriana; 2008.
26. García C. Actividad antibacteriana de Extractos vegetales en cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. [Tesis doctoral]. México DF: Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro; 2006.
27. Mensa J, Soriano A, Linares P, Barberán J, Montejo M, Salavert M, et al. Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. Rev Esp Quimioter. 2013; 26(suppl 1)1-84.
28. Castro L, Morán M. Propuesta de una formulación de alcohol gel y su respectivo procedimiento de registro. [tesis] San Salvador: Universidad de el Salvador; 2011.
29. The United States Pharmacopeial convention. Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario Nacional. Publicado por la USP. USP 38 NF33. Vol.1. p. 1406. 2015.
30. Análisis de productos desinfectantes y antibacteriales. La verdad sobre los arranca gérmenes. Revista del Consumidor. 2012; 3: 60-63.
31. Orlandini M. Dermatología cosmética. Piel sana y manto ácido. Folia Dermatol. 2014; 15(2):121-124.
32. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Lima: Fondo editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo editorial; 1988.

33. Matta M. Screening fitoquímico, antibacteriano y antioxidante de plantas preandinas y del altiplano chileno. [Tesis]. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2009.
34. Torres J. Evaluación de extractos de *Luma chequen* (molina) a. gray “arrayán”, frente a patógenos aislados de hemocultivos del hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen. [Tesis]. Lima: UNMSM; 2014.
35. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas color. 5ta edición. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana, 2004.
36. Fosch S, Yones C, Trossero M, Grosso O, Napote A. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in community individuals: epidemiological factors. Acta bioquim Clin Latinoam. 2012; 46(1):59-67.
37. Ruiz J, Roque M. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del nor-oriental peruano. Ciencia e Investigación. 2009; 12(1):41-47
38. Da Silva S, Silveira de Lima M, Nogueira F, Ximenes M, Esgaib F. Evaluación del efecto de un gel conteniendo extracto de aruera en el tratamiento de gingivitis. Estudio clínico en humanos. Acta Odontol Venez. 2009; 47(4):78-91
39. Balboceda F. Estudio fitoquímico en *Senecio rhizomatus* Rusby ancahuasha. [Tesis]. Lima: UNMSM; 1997.
40. Dorle A, Swanri K, Nagare S, Hyam S. Design and evaluation of novel topical gel of *Tinospora cordifolia* as antibacterial agent. Asian J Pharm Clin Res. 2015; 8(6):237-239.
41. Dauf F, Shubahangi W, Mamta J, Gauri P. Development of herbal antiacné gel and its evaluation against acne causing

Propionibacterium acné and *Staphylococcus epidermidis*. Int J Res Ayurveda Pharm. 2013; 4(5):781-786.

ANEXOS

1. Clasificación Taxonómica de *Senecio rhizomatus* Rusby por el Herbario San Marcos (UNMSM) del Museo de Historia Natural.
2. Imagen de *Senecio rhizomatus* Rusby que se encuentra en el New York Botanical Garden.
3. Certificado de la cepa ATCC *Staphylococcus aureus* sub sp aureus
4. Certificado del reactivo para prueba de catalasa. Peróxido de Hidrógeno al 30%
5. Certificado del reactivo para prueba de coagulasa. Plasma de conejo con EDTA.
6. Certificado de reactivo para preparación de Agar Baird Parker
7. Imagen del Viscosímetro utilizado para medir la viscosidad de los geles utilizados en los análisis.

GLOSARIO

ALCALOIDE: sustancia nitrogenada que se encuentra en ciertos vegetales y constituye un estimulante natural; puede ser venenosa y algunas se emplean en terapéutica médica.

ANTIMICROBIANO: Sustancia que combate o ataca a los microbios.

CEPAS BACTERIANAS: una cepa es un conjunto de células homogéneas, o clones, que deriva de la reproducción de una célula inicial única, seleccionada y aislada. También suele referirse a las cepas como colonias puras de bacterias.

CEPA COMUNITARIA: cepas que forman parte de la flora habitual o normal del ser humano aislada de un grupo de personas sanas.

CEPA HOSPITALARIA: cepa obtenida de hemocultivo de paciente hospitalizado.

ENDÉMICO: que se repite frecuentemente o que está muy localizado en un lugar.

ESTABILIZACIÓN: concesión o adquisición de estabilidad, firmeza o permanencia.

ESTEROIDES: los esteroides son un tipo de compuestos orgánicos derivados del núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno o esterano que

se compone de carbono e hidrógeno formando cuatro anillos fusionados, tres con seis átomos y uno con cinco; posee en total 17 átomos de carbono.

FAMILIA ASTERACEAE: la familia *asteraceae*, también llamadas compuestas, reúnen más de 23500 especies repartidas en unos 1600 géneros, por lo que son la familia de Angiospermas con mayor riqueza y diversidad biológica en el mundo.

FLAVONOIDES: es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. La estructura base, un esqueleto C6-C3-C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua.

LLANCAHUASHA: nombre común o vulgar que se le da a la especie *Senecio rhizomatus* Rusby, utilizada en medicina popular con propiedades antimicrobianas.

METABOLITOS SECUNDARIOS: Se llama metabolitos secundarios de las plantas a los compuestos químicos sintetizados por estas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta, ya que no intervienen en el metabolismo primario. Los

metabolitos secundarios de las plantas intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente.

SENECIO: es un género cosmopolita extremadamente complejo de la familia de las Asteraceae.