Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Composición química y actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" y su aplicación en gel dermatológico

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica

AUTORES

Valery Romina DOMINGUEZ PARCO

Elizabeth Nivia ZEÑA CHIARA

ASESOR

Dr. Julio Reynaldo RUIZ QUIROZ

Lima, Perú

2026



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Dominguez V, Zeña E. Composición química y actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" y su aplicación en gel dermatológico [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2026.

Metadatos complementarios

Datos de autor 1	
Nombres y apellidos	Valery Romina Dominguez Parco
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	74031795
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-7698-8316
Datos de autor 2	
Nombres y apellidos	Elizabeth Nivia Zeña Chiara
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	72877582
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-4311-4134
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07760326
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-4176-1618
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	César Máximo Fuertes Ruitón
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	15289369
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Roberto Jhalver Vega Paulino

Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	40556214
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Bertran Santiago Trujillo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07186287
Datos de investigación	
Línea de investigación	Recursos y productos naturales con potencial farmacéutico, alimentario, y cosmético.
Grupo de investigación	No aplica.
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Microbiología País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Jr. Puno N°1002 Latitud: -12.05572 Longitud: -77.02324
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2022 – 2026
URL de disciplinas OCDE	Farmacología, Farmacia https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Composición química y actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" y su aplicación en un gel dermatológico

Que presentan las Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

VALERY ROMINA DOMINGUEZ PARCO Y
ELIZABETH NIVIA ZEÑA CHIARA

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, ha obtenido la siguiente calificación final:

DIECINUEVE (19) APROBADO CON MÁXIMOS HONORES

de conformidad con el Art. 14.° del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Lima, 01 de abril de 2026.

Dr. César Máximo Fuertes Ruitón
Presidente

Dr. Roberto Jhalver Vega Paulino
Miembro

Mg. Bertran Santiago Trujillo
Miembro

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

Anexo 1
CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **Julio Reynaldo Ruiz Quiroz**, en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen de la UPG o de la EP **N.° 033-FFB-EPFB-2025** de la **Tesis**, cuyo título es **Composición química y actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" y su aplicación en gel dermatológico**, presentada por las **Bachilleres Valery Romina Dominguez Parco y Elizabeth Nivia Zeña Chiara** para optar el **Título Profesional** de **Químico Farmacéutica**,

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el **20**% de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional**.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención **Título Profesional de Químico Farmacéutica.**

Lima, 25 de marzo de 2026

Firma del Asesor: 

Nombre y Apellidos del asesor: Julio Reynaldo Ruiz Quiroz

DNI: 07760326

La vigencia del presente certificado corresponde a un período de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis representa no solo el resultado de un esfuerzo académico, sino también el reflejo del apoyo, la comprensión y el amor de las personas que han estado a mi lado en cada etapa de este camino. A todos aquellos que, con su presencia, consejos y palabras de aliento, hicieron posible la culminación de esta meta, deseo expresar mi más sincero agradecimiento.

Dedico esta tesis, en primer lugar, a mi madre Nivia Chiara, ejemplo de fortaleza, entrega y amor incondicional. Su apoyo constante, sus sacrificios y su fe en mis capacidades han sido el motor que me ha impulsado a seguir adelante incluso en los momentos más difíciles.

A mis hermanos Kevin Zeña y Sandy Zeña, por su cariño, comprensión y por ser fuente constante de alegría y motivación. Su compañía ha sido un recordatorio del valor de la hermandad y de la importancia de compartir los logros con quienes siempre han estado presentes.

A mi padre Angel Zeña, por sus palabras de aliento y su preocupación por mi persona.

Extiendo mi más profundo agradecimiento a mis queridos abuelitos Eleuterio Chiara y Rosa Huayta, por su amor, sabiduría y por haberme inculcado el valor del esfuerzo y la humildad.

A mis queridas tías Alicia Chiara, Olga Chiara y Rosario Chiara, y a mi tío Eddy Chiara, por su constante apoyo, por creer en mí y por brindarme siempre palabras de ánimo y afecto que me impulsaron a continuar con determinación.

Finalmente, a mi compañero de vida Frank Herrera, por su apoyo incondicional, paciencia y comprensión durante este proceso.

A todos ustedes, con profundo cariño y gratitud, dedico este trabajo como testimonio del amor, la unión y la confianza que me han acompañado en cada paso de este recorrido.

Bach. Zeña Chiara, Elizabeth Nivia

Al iniciar este proyecto nunca imaginé cuánto crecería, cuánto aprendería y cuántas veces tendría que volver a levantarme para continuar. Hoy, al concluir esta tesis, quiero dedicar este logro a quienes caminaron a mi lado en cada etapa de este proceso.

A Dios y a mis padres, Teresa Parco y David Dominguez, quienes, con su gran amor incondicional, sacrificio y una fe inquebrantable me enseñaron que todo esfuerzo tiene sentido cuando se hace con el corazón. Gracias por cada palabra de aliento, por cada abrazo que me devolvió la calma y por cada gesto que me recordó que siempre valía la pena seguir.

A mis hermanos, Sandy Dominguez y Harold Dominguez, quienes siempre encontraron la manera de sacarme una sonrisa. Gracias por sus consejos, por impulsarme a seguir adelante y por sostenerme cuando el cansancio parecía vencerme. Gracias también por celebrar conmigo cada pequeño avance, que para ustedes siempre fue motivo de orgullo. Su compañía fue un refugio constante durante este camino.

A mi gran compañera de 15 largos años, mi querida perrita Benji, que hace poco dejó el plano terrenal para ir al cielo. La recuerdo con una nostalgia inmensa. Me acompañó en incontables madrugadas de estudio, siempre a mi lado, brindándome calma sin decir una palabra. Su partida dejó un vacío profundo en nuestra familia, pero me consuela saber que ahora descansa en un lugar mejor. Un beso hasta el cielo, Benji.

A mis maestros y mentores, gracias por compartir su conocimiento y por sembrar en mí el amor por la ciencia, la investigación y la disciplina académica.

Y, finalmente, dedico este logro a la versión de mí que no se rindió, que se esforzó más allá de sus límites y que se demostró que los sueños se alcanzan con constancia, paciencia y valentía. Esta tesis es el resultado de muchas madrugadas, de dudas y temores, pero también de profundas convicciones y de las ganas de salir adelante.

Bach. Dominguez Parco, Valery Romina

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento al Dr. Julio Ruiz, asesor de esta tesis, por su valiosa orientación, dedicación y acompañamiento durante todo el desarrollo de este trabajo. Su experiencia, compromiso y disposición para compartir sus conocimientos fueron fundamentales para alcanzar los objetivos propuestos.

Agradecemos también al Dr. Pablo Bonilla por su apoyo, sus acertadas observaciones y aportes técnicos, que contribuyeron significativamente al fortalecimiento de esta investigación.

De igual manera, extendemos nuestro agradecimiento al grupo de investigación EICIFARN, por brindarnos un espacio de aprendizaje, colaboración y crecimiento profesional, así como por el constante intercambio de ideas y experiencias que enriquecieron este estudio.

Finalmente, expresamos nuestro reconocimiento al Q.F. Gustavo Fernández por su apoyo y acompañamiento durante la ejecución de este trabajo, y por sus valiosas recomendaciones que aportaron al logro de los resultados obtenidos.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN ---------- 1

I.1. Planteamiento del problema ---------- 1
I.1.1. Determinación del problema de investigación ---------- 1
I.1.2. Formulación del problema de investigación ---------- 2
I.1.2.1. Problema general ---------- 2
I.1.2.2. Problemas específicos ---------- 2

I.2. Objetivos ---------- 3
I.2.1. Objetivo general ---------- 3
I.2.2. Objetivos específicos ---------- 3

I.3. Importancia y alcance de la investigación ---------- 3

I.4. Limitaciones de la investigación ---------- 4

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA ---------- 5

II.1. Marco teórico ---------- 5
II.1.1. Sistema taxonómico ---------- 6
II.1.2. Características botánicas ---------- 7
II.1.3. Distribución y hábitat ---------- 8
II.1.4. Composición química ---------- 9
II.1.4.1. Flavonoides ---------- 9
II.1.4.2. Alcaloides ---------- 10
II.1.5. Usos en la medicina tradicional ---------- 11
II.1.5.1. Tratamiento de heridas, verrugas, entre otros. ---------- 11
II.1.5.2. Tratamiento de infecciones ---------- 12
II.1.5.3. Propiedades antiinflamatorias ---------- 12
II.1.6. Gel dermatológico ---------- 13

II.2. Antecedentes del estudio ---------- 14

II.3. Glosario de términos ---------- 18
II.3.1. Actividad antimicrobiana ---------- 18
II.3.2. Cromatografía en capa fina (CCF) ---------- 18
II.3.3. Concentración mínima inhibitoria (CMI) ---------- 18
II.3.4. Estudio *in vitro* ---------- 18
II.3.5. Geles ---------- 18
II.3.6. Método de microdilución ---------- 19
II.3.7. Método de difusión en agar ---------- 19

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES ---------- 20

III.1. Hipótesis ---------- 20

III.2. Variables ---------- 20
III.2.1. Variable dependiente ---------- 20

III.2.2. Variable independiente ----------20

III.3. Operacionalización de variables----------21

IV. MATERIALES Y MÉTODOS ----------22

IV.1. Área de estudio ----------22

IV.2. Diseño de investigación----------22

IV.3. Población y muestra ----------22

IV.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información 22

IV.4.1. Ensayo botánico ----------22

IV.4.2. Ensayo fitoquímico ----------23

IV.4.2.1. Obtención del extracto----------23

IV.4.2.2. Evaluación del extracto----------24

IV.4.2.3. Composición química ----------28

IV.4.2.4. Determinación de estructuras químicas----------28

IV.4.3. Ensayos antimicrobianos *in vitro* ----------29

IV.4.3.1. Determinación la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* "quishuar" por el método de difusión en agar ----------29

IV.4.3.2. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* "quishuar" por el método de Microdilución colorimétrico en microplaca.----------31

IV.4.4. Ensayo farmacotécnico ----------39

IV.4.4.1. Elaboración del gel dermatológico----------39

IV.4.4.2. Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* del gel ----------43

IV.4.4.3. Ensayos de Estabilidad----------45

a. Pruebas fisicoquímicas ----------45

b. Prueba en centrifugación ----------45

c. Estabilidad preliminar ----------46

V. RESULTADOS ----------47

V.1. Identificación del material biológico ----------47

V.2. Obtención y concentración de los extractos de *Buddleja incana* Ruiz & Pav 47

V.3. Ensayo de solubilidad----------48

V.4. Marcha fitoquímica ----------49

V.5. Composición química ----------52

V.6. Propuesta de estructuras químicas ----------56

V.7. Determinación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* “quishuar” por el método de difusión en agar-----59

V.8. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* “quishuar” por el método de Microdilución colorimétrico en microplaca.----------68

V.9. Ensayo Farmacotécnico----------74
V.9.1. Especificaciones del producto terminado----------74
V.9.2. Ensayo de estabilidad ----------75
V.9.2.1. Prueba en centrifugación ----------75
V.9.2.2. Estabilidad preliminar----------76
V.9.3. Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* del gel ----------78

VI. DISCUSIÓN ----------86

VII. CONCLUSIONES----------97

VIII. RECOMENDACIONES----------98

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS----------99

X. ANEXOS ----------111

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Especie vegetal Buddleja incana Ruiz & Pav. (23).....7
Figura 2. Hojas de Buddleja incana Ruiz & Pav. (23).....7
Figura 3. Inflorescencia de Buddleja incana Ruiz & Pav. (27).....8
Figura 4. Procedimiento de la obtención del extracto de Buddleja incana Ruiz & Pav **Fuente:** Elaboración propia.....48
Figura 5. Resultados del ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de Buddleja incana Ruiz & Pav. 1) Agua; 2) Metanol; 3) Etanol; 4) Butanol 5) Acetato de etilo; 6) Cloroformo; 7) n-Hexano. **Fuente:** Propia.....49
Figura 6. Resultados 1era parte del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav 1) Blanco. 2) Gelatina. 3) Ninhidrina. 4) Tricloruro férrico (FeCl3). 5) Dragendorff. 6) Mayer. 7) Shinoda. 8) Bontranger. Fuente: Propia.....51
Figura 7. Resultados 2da parte del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav 1) Blanco. 2) Molish. 3) Fehling. 4) Popoff. 5) Bouchardart. 6) Lieberman-Bouchard. 7) Baljet. 8) Tollens. **Fuente:** Propia.....51
Figura 8. Resultados de cromatografía en capa fina (CCF) del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. **A.** Luz UV 254 nm. **B.** Resultados con reveladores cromogénicos a luz visible (*). *Reveladores: a) $FeCl_3$. b) Extracto. c) Baljet. **C.** Luz UV 365 nm. **Fuente:** Propia.....52
Figura 9. Resultados de CCF del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. **A.**Luz UV254 nm. **B.**Resultados con reveladores cromogénicos a luz visible (*). *Reveladores: a) H_2SO_4 al 50%. b) Extracto. c)Dragendorff. **C.**Luz UV 365nm. **Fuente:** Propia.....53
Figura 10. Resultados de CCF con estándares del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. **A.** Luz UV 254 nm. **B.** Luz visible. **C.** Luz UV 365 nm. a) Rutina. b) Quercetina. c) Extracto. d) Hesperidina complejo. **Fuente:** Propia.....54
Figura 11. Resultados de cromatografía en capa fina (CCF) preparativa del extracto hidroalcohólico de hojas de Buddleja incana Ruiz & Pav. **A.** Luz UV 254 nm. **B.** Luz UV 365 nm. **C.** Luz visible. **Fuente:** Propia.....56
Figura 12. Lecturas espectrofotómetro UV/Vis Fracción MI.....57

Figura 13. 5,7,4´-trihidroxi-6,8,3´-trimetoxiflavona. 57
Figura 14. Lecturas espectrofotómetro UV/Vis Fracción MII 58
Figura 15. 5-hidroxi-6,7,8,3´,4´-pentametoxiflavona 58
Figura 16. Lecturas espectrofotómetro UV/Vis Fracción MIII 59
Figura 17. 5,7,3`-trihidroxi-6,8,4´-trimetoxiflavona 59
Figura 18. Gráfica de promedio de halos de inhibición del extracto y controles frente a bacterias gram + y gram - 60
Figura 19. Análisis de varianza (ANOVA Two way) Halos de inhibición del extracto frente a bacterias gram+ y gram- 61
Figura 20. Prueba de comparación multiple de Tukey de los halos de inhibición del extracto frente a bacterias gram+ y gram- 61
Figura 21. Halos de inhibición en Escherichia coli ATCC 25922 frente a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico Buddleja incana “quishuar”. **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y diluyente utilizado Dimetilsulfóxido (-). 62
Figura 22. Halos de inhibición en Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 frente a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico Buddleja incana “quishuar”. **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y diluyente utilizado Dimetilsulfóxido (-). 63
Figura 23. Halos de inhibición en Staphylococcus aureus ATCC 25923 frente a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico Buddleja incana “quishuar”. **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y diluyente utilizado Dimetilsulfóxido (-). 64
Figura 24. Halos de inhibición en Bacillus subtilis ATCC 6633 frente a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico Buddleja incana “quishuar”. **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y diluyente utilizado Dimetilsulfóxido (-). 65
Figura 25. Gráfica de promedio de halos de inhibición del extracto y controles frente a levadura C. Albicans. 66
Figura 26. Análisis de varianza (ANOVA One way) Halos de inhibición del extracto frente a levadura C. Albicans 66
Figura 27. Prueba de comparación multiple de Tukey de los halos de inhibición del extracto frente a levadura C. Albicans 67

Figura 28. Halos de inhibición en Candida albicans ATCC 10231 frente a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico Buddleja incana "quishuar". Control positivo: Fluconazol 0,02 mg/mL (+) y diluyente utilizado Dimetilsulfóxido (-).....67
Figura 29. Gráfica de promedio de CMI del extracto y controles frente a bacterias Gram +.....69
Figura 30. Ensayo in vitro de CMI del extracto hidroalcohólico de hojas de Buddleja incana Ruiz & Pav frente a Staphylococcus aureus y Bacillus subtilis. (A) Microplaca de bacterias grampositivas antes de la incubación por 24 h a 37 °C. (B) Resultados del ensayo in vitro de CMI después de la incubación ...70
Figura 31. Ensayo *in vitro* de CMI del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav frente a *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (A) Microplaca de bacterias gramnegativas antes de la incubación por 24 h a 37 °C. (B) Resultados del ensayo *in vitro* de CMI después de la incubación ...71
Figura 32. Gráfica de promedio de CMI del extracto y controles frente a levadura C. Albicans 72
Figura 33. Ensayo *in vitro* de CMI del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav frente a *Candida albicans* (A) Microplaca de levadura antes de la incubación por 24 h a 37 °C. (B) Resultados del ensayo *in vitro* de CMI después de la incubación 73
Figura 34. Gel del extracto hidroalcohólico de hojas de Buddleja incana Ruiz & Pav a concentraciones del 1,0%, 3,0% y 5,0% 75
Figura 35. Gráfica de promedio de halos de inhibición del gel del extracto y controles frente a bacterias gram + y gram – 78
Figura 36. Análisis de varianza (ANOVA Two way) Halos de inhibición del gel del extracto frente a bacterias gram + y gram – 79
Figura 37. Prueba de comparación multiple de Tukey de los halos de inhibición del gel del extracto frente a bacterias gram+ y gram- 79
Figura 38. Halos de inhibición en *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a distintas concentraciones del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y **Control negativo:** Gel base (-). 80
Figura 39. Halos de inhibición en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 frente a distintas concentraciones del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana*

“quishuar”. **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y **Control negativo:** Gel base (-). 81
Figura 40. Halos de inhibición en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente a distintas concentraciones del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* “quishuar”. **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y **Control negativo:** Gel base (-). 82
Figura 41. Halos de inhibición en *Bacillus subtilis* ATCC 6633 frente a distintas concentraciones del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* “quishuar”. **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y **Control negativo:** Gel base (-). 83
Figura 42. Gráfica de promedio de halos de inhibición del gel del extracto y controles frente a levadura *C. Albicans* 84
Figura 43. Análisis de varianza (ANOVA One way) Halos de inhibición del gel del extracto frente a levadura *C. Albicans* 84
Figura 44. Prueba de comparación multiple de Tukey de los halos de inhibición del gel del extracto frente a levadura *C. Albicans*..... 85
Figura 45. Halos de inhibición en *Candida albicans* ATCC 10231 frente a distintas concentraciones del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* “quishuar”. Control positivo: Fluconazol 0,02 mg/mL (+) y Control negativo: Gel base (-) 85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables (Fuente: Propia) 21
Tabla 2. Esquema de diluciones del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. "quishuar" frente a cepas bacterianas Ec, Sa, Bs y Pa (*) 33
Tabla 3. Esquema de diluciones del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. "quishuar" frente a la levadura *C. albicans* 34
Tabla 4. Esquema de dilución del ciprofloxacino 37
Tabla 5. Esquema de dilución del fluconazol 38
Tabla 6. Formulación gel base 40
Tabla 7. Formulación gel del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" al 1% 40
Tabla 8. Formulación gel del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" al 3% 41
Tabla 9. Formulación gel del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" al 5% 41
Tabla 10. Clasificación taxonómica de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" 47
Tabla 11. Marcha de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. 48
Tabla 12. Reacciones químicas y su identificación de compuestos del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. 50
Tabla 13. Rfs Reveladores cromogénicos en Cromatografía en capa fina del extracto de *Buddleja incana* Ruiz y Pav. 53
Tabla 14. Rfs reveladores cromogénicos Cromatografía en capa fina del extracto de *Buddleja incana* Ruiz y Pav. 54
Tabla 15. Rfs Cromatografía en capa fina del extracto de *Buddleja incana* Ruiz y Pav. 55
Tabla 16. Rfs Estándares en Cromatografía en capa fina del extracto de *Buddleja incana* Ruiz y Pav. 55
Tabla 17. Rfs Cromatografía en capa fina preparativa del extracto de *Buddleja incana* Ruiz y Pav. 56

Tabla 18. Valores promedio de los halos de inhibición del Extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* “quishuar” frente a bacterias gram+ y gram- 60
Tabla 19. Valores promedio de los halos de inhibición del Extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* “quishuar” frente a levadura C. albicans ... 65
Tabla 20. Valores de Concentración mínima inhibitoria *in vitro* del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. en bacterias 68
Tabla 21. Valores de Concentración mínima inhibitoria *in vitro* del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. en levadura *C.albicans.* 72
Tabla 22. Propiedades fisicoquímicas del gel del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. 74
Tabla 23. Resultados de la prueba de centrifugación 76
Tabla 24. Resultados de la prueba de estabilidad preliminar 77
Tabla 25. Valores promedio de los halos de inhibición del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* “quishuar” frente a bacterias gram+ y gram- . 78
Tabla 26. Valores promedio de los halos de inhibición del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* “quishuar” frente a levadura *C.albicans.* 83
Tabla 27. Comparación de la actividad antimicrobiana de extractos del género Buddleja mediante el método de difusión en agar 89
Tabla 28. Comparación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de extractos de especies del género *Buddleja* frente a diferentes microorganismos 92

RESUMEN

Buddleja incana Ruiz & Pav. (Scrophulariaceae) desde la cultura Inca es considerada una planta curativa de América del Sur, popularmente se le conoce por su actividad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana. Sin embargo, la investigación científica sobre su actividad antimicrobiana es poco estudiada en el Perú, no se encuentran estudios realizados sobre dicha actividad, así como, estudios sobre sus componentes fitoquímicos. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la composición química y la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. "quishuar" y su aplicación en forma de gel dermatológico. Los metabolitos secundarios del extracto se determinaron mediante tamizaje fitoquímico, Cromatografía en Capa Fina (CCF) y Espectroscopia UV-Visible (UV-Vis), en los cuales se encontraron compuestos fenólicos, sesquiterpenlactonas y alcaloides. La actividad antimicrobiana del extracto se evaluó mediante los métodos de difusión en agar y microdilución colorimétrica. En el primer método, la mayor concentración evaluada (150,0 mg/mL) mostró actividad frente a *Escherichia coli, Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa* con un halo de inhibición de 14,0 mm*, Bacillus subtilis* (15,0 mm) y *Candida albicans* (14,33 mm). En el método de microdilución colorimétrica, el extracto presentó actividad frente a *S. aureus y B. subtilis*, con valores de CMI de 500,0 µg/mL y 2000,0 µg/mL, respectivamente, además de una CMI de 500,0 µg/mL frente a *C. albicans*. Por su parte, el gel dermatológico formulado al 5,0% alcanzó halos de 19,0 mm frente a *E. coli* y *P. aeruginosa*, 21,33 mm frente a *S. aureus*, 18,50 mm frente a *B. subtilis* y 22,33 mm frente a *C. albicans*. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *B. incana* Ruiz & Pav y el gel dermatológico presentaron actividad antimicrobiana, atribuible a la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides.

Palabras clave: *Buddleja incana*, quishuar, antimicrobiana, gel dermatológico

ABSTRACT

Buddleja incana Ruiz & Pav. (Scrophulariaceae) has been considered a medicinal plant of South America since the Inca culture, popularly known for its antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activity. However, scientific research on its antimicrobial activity is scarce in Peru, and no studies have been found regarding this activity or its phytochemical components. The present study aims to evaluate the chemical composition and antimicrobial effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Buddleja incana* Ruiz & Pav. "quishuar" and its application as a dermatological gel.

The secondary metabolites of the extract were determined by phytochemical screening, Thin Layer Chromatography (TLC), and UV-Visible Spectroscopy (UV-Vis), in which phenolic compounds, sesquiterpene lactones, and alkaloids were identified. The antimicrobial activity of the extract was evaluated using agar diffusion and colorimetric microdilution methods. In the first method, the highest concentration tested (150.0 mg/mL) showed activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*, with an inhibition zone of 14.0 mm; *Bacillus subtilis* (15.0 mm) and *Candida albicans* (14.33 mm). In the colorimetric microdilution method, the extract showed activity against *S. aureus* and *B. subtilis*, with MIC values of 500.0 µg/mL and 2000.0 µg/mL, respectively, as well as an MIC of 500.0 µg/mL against *C. albicans*.

The 5.0% formulated dermatological gel achieved inhibition zones of 19.0 mm against *E. coli* and *P. aeruginosa*, 21.33 mm against *S. aureus*, 18.50 mm against *B. subtilis*, and 22.33 mm against *C. albicans*. It is concluded that the hydroalcoholic extract of the leaves of *B. incana* Ruiz & Pav. and the dermatological gel exhibited antimicrobial activity, attributable to the presence of secondary metabolites such as flavonoids.

Keywords: *Buddleja incana*, quishuar, antimicrobial, dermatological gel

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Planteamiento del problema

I.1.1. Determinación del problema de investigación

La resistencia a los antimicrobianos es uno de los problemas más críticos que enfrentan las comunidades científica y médica, es un grave problema de salud pública que puede hacer que medicamentos que antes eran eficaces se vuelvan ineficaces (1). Según cifras de la OMS, entre 2018 y 2023, la resistencia a los antibióticos aumentó en más del 40 % de las combinaciones de patógeno-antibiótico monitoreadas (2).

El “Informe mundial sobre la vigilancia de la resistencia a los antibióticos 2025” de la OMS (3) expresa que la resistencia a los antimicrobianos se posiciona como una de las principales causas de muerte a nivel mundial, con la mayor mortalidad en entornos de bajos recursos; en 2021, se relacionó con aproximadamente 1,14 millones de muertes.

El uso inadecuado de antibióticos y la falta de regulación y educación contribuyen al aumento de la resistencia a los antimicrobianos (4). Rather, et al. (5) investigaron acerca de la crisis actual de la resistencia a los antibióticos, así como los diversos desafíos derivados de la automedicación y del uso irracional de estos fármacos, factores que incrementan la vulnerabilidad de las personas frente a múltiples enfermedades; en numerosas ocasiones se administran antibióticos frente a los cuales los patógenos, a lo largo de su evolución, ya han desarrollado resistencia; esta situación dificulta considerablemente el tratamiento y genera importantes desafíos para los profesionales de la salud a nivel global.

Por otra parte, la Organización Mundial de la Salud (OMS) (6) nos indica una disminución radical acerca de la fabricación de nuevos medicamentos antimicrobianos, ello como consecuencia del desinterés en descubrir

nuevos principios activos con actividad biológica, esto conlleva un desafío de salud pública que requiere el tratamiento clínico de microorganismos resistentes. Ante ello, es necesario dirigir los esfuerzos hacia la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos que puedan superar esas limitaciones. Una de las alternativas ante este problema, es el uso de plantas con propiedades médico-farmacológicas.

La Buddleja incana Ruiz & Pav. (Scrophulariaceae) es una planta medicinal de larga tradición en los Andes sudamericanos, con uso documentado desde la época inca. En la medicina popular se aprovecha por sus efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, entre otros beneficios (7). Sin embargo, la investigación sobre su actividad antimicrobiana es poco estudiada en el Perú, no se encuentran estudios realizados sobre dicha actividad, así como, estudios de sus componentes fitoquímicos. Por ende, con el presente trabajo tiene como propósito ampliar y aportar conocimiento de la composición química y actividad antimicrobiana de la planta medicinal *Buddleja incana* Ruiz & Pav.

I.1.2. **Formulación del problema de investigación**

I.1.2.1. Problema general

¿Cuál es la composición química y la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. “quishuar” y su aplicación en forma de gel dermatológico?

I.1.2.2. Problemas específicos

- ¿Qué componentes fitoquímicos tiene el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav “quishuar”?
- ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav “quishuar” presenta actividad antimicrobiana?
- ¿El gel dermatológico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav “quishuar” presenta actividad antimicrobiana?

I.2. Objetivos

I.2.1. Objetivo general

Evaluar la composición química y actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" y su aplicación en forma de gel dermatológico.

I.2.2. Objetivos específicos

1. Analizar los componentes fitoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar".
2. Determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar.
3. Determinar la actividad antimicrobiana del gel dermatológico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar".

I.3. Importancia y alcance de la investigación

En el Perú, en el transcurrir del tiempo, diversas plantas medicinales fueron usadas por los pueblos indígenas (8). Además, somos un país megadiverso que alberga una amplia diversidad de recursos de flora y fauna, ubicándonos en áreas geográficas que son centros de biodiversidad a nivel mundial (9). A pesar de ser un país megadiverso, el estudio de sus plantas medicinales requiere de mayor interés; por eso el presente trabajo hará conocer el valor farmacológico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. "quishuar", una planta endémica del Perú.

Se evaluará la alternativa de esta planta como abordaje de enfermedades infecciosas, razón por la cual se quiere analizar su composición química y determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav.; así como la elaboración de un gel dermatológico en base a ella.

La justificación social, es importante ya que, se busca comprobar científicamente el uso que le da la población de Canta (10), Ancash (11), entre otros, para el manejo de enfermedades infecciosas. El estudio de esta

planta significaría una validación científica de sus usos ancestrales y le brindaría a la población una nueva alternativa de tratamiento frente a enfermedades infecciosas. Por lo mencionado, se busca preparar un gel dermatológico ya que uno de los usos principales de esta planta es en forma de “cataplasma” (un tratamiento tradicional que consiste en hierba machacada que se aplica sobre la piel con el fin de sanar o aliviar alguna dolencia) (12) lo que indica una demanda y una tradición arraigada. Esto demuestra que existe un interés y una necesidad local de productos relacionados con esta planta. Además, mencionar que un preparado dermatológico permitirá una aplicación más segura y controlada de los beneficios de la planta en la piel. Las cataplasmas pueden no ser higiénicos y pueden no proporcionar una dosis precisa de los ingredientes activos.
Los preparados dermatológicos fortificados con compuestos bioactivos se adaptan idealmente a las necesidades de la piel y son más respetuosos con el medio ambiente que los preparados farmacéuticos convencionales (13), ello lograría beneficiar la salud pública al proporcionar un tratamiento adecuado y controlado para las diferentes afecciones dermatológicas.

Por otro lado, es importante mencionar que la investigación de nuevos agentes antimicrobianos es de suma importancia para contrarrestar las enfermedades infecciosas; es necesario que los medicamentos estén disponibles de forma eficaz, accesible y fácil de usar; pese a lo cual, estos no son suficientes. Actualmente la ciencia y la tecnología ha evolucionado en gran magnitud, lo que permitiría suministrar de los medicamentos que se requieren, sin embargo, hay deficiencia en el desarrollo de novísimos fármacos antimicrobianos (14). Debido a ello, nuestra investigación significa un gran aporte a la lucha contra las enfermedades infecciosas.

I.4. Limitaciones de la investigación

La evidencia científica disponible sobre la actividad antimicrobiana de *Buddleja incana* Ruiz & Pav., conocida como “quishuar”, es limitada, especialmente en el contexto nacional. La escasez de estudios previos

restringe la posibilidad de realizar comparaciones directas y establecer referentes sobre su eficacia antimicrobiana.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

II.1. Marco teórico

El género *Buddleja* pertenece a la familia Scrophulariaceae, apesar de haber sido previamente catalogada en la familia Buddlejaceaea (15). Engloba aproximadamente 100 especies que se hallan distribuidas en diversas regiones tropicales de todo el mundo, variando desde arbustos hasta árboles (16), es conocido por ser una fuente de néctar para muchas especies de mariposas, de lo cual ha valido su apodo de "arbusto de las mariposas"(17). Además, son ampliamente cultivadas como plantas ornamentales en jardinería debido a sus hermosas y fragantes flores que vienen en una variedad de colores (16). Muchas especies de *Buddleja* son resistentes y pueden sobrevivir en condiciones de sequía, lo que las hace ideales para regiones con escasez de agua (18). Asimismo, contribuyen positivamente a los ecosistemas al promover la regeneración del suelo, controlar la erosión, facilitar la infiltración del agua y proporcionan alimento y refugio para la fauna silvestre (18). Por otra parte, algunas culturas han utilizado partes de las plantas *Buddleja* con propósitos medicinales, tales como en la medicina tradicional china y en algunas culturas indígenas (19).

Con respecto a *Buddleja incana* es un árbol que pertenece a la familia Scrophulariaceae y se encuentra en la región de la sierra central de Perú (19). Es conocida comúnmente como Quishuar, Kiswara o Kolle en idioma Quechua-Aymara(20) . *Buddleja incana* se halla dispersa en la Sierra entre los 2800–4800 m.s.n.m. (19). Sus flores se utilizan en la producción de tintes, y debido a la dureza de sus troncos, se emplean en la fabricación de timones, yugos, mangos de azadón, arados, piquetas, postes, objetos artesanales, corrales y la construcción de viviendas (17).

En la región montañosa central de Perú, se utiliza con regularidad como cerco vivo alrededor de hogares y terrenos agrícolas. Esta práctica ofrece resguardo a los cultivos contra las adversidades del clima andino, como los vientos fuertes y las heladas (17). Esta especie se emplea en barreras vivas

para mitigar la degradación del suelo y contribuir al mejoramiento de las condiciones de vida en la región altoandina de Bolivia (18). Además, en la medicina tradicional se utiliza la infusión de las hojas con propósitos medicinales tales como aliviar dolores reumáticos, agente cicatrizante, antibacteriano y antimicótico. También se emplea para estimular la proliferación del endometrio y la regeneración de la piel. Estudios en ratones han demostrado su capacidad para inhibir la ciclooxigenasa (COX2) (21).

II.1.1. **Sistema taxonómico**

La posición taxonómica de esta planta es la siguiente (22):

CLASE: Magnoliopsida
SUBCLASE: Magnoliidae
SUPERORDEN: Asteranae
ORDEN: Lamiales
FAMILIA: Scrophulariaceae
GENERO: *Buddleja*
ESPECIE: ***Buddleja incana*** **Ruiz & Pav.**

Nombre vulgar: “Quishuar”.



Figura 1. Especie vegetal *Buddleja incana* Ruiz & Pav. (23)

II.1.2. **Características botánicas**

Buddleja incana Ruiz & Pav. es un árbol o arbusto de la familia Scrophulariaceae capaz de llegar a una altura de hasta 15 metros de altura cuando se desarrolla como árbol, con flores agrupadas en cabezas y frutos pequeños de 5-6 mm de longitud (24) y presenta un diámetro de 20 a 50 cm (25). La corteza externa es agrietada y de color marrón y la corteza interna de color crema claro (25).

Las hojas son simples, opuestas y alargadas. Miden de 10 a 12 cm longitud por 2 a 2,5 cm ancho (25). La cara superior es de color verde claro u oscuro, con venas fuertemente impresas; tienen el borde finamente dentado, la parte superior de la hoja es suave al tacto (glabrescente), mientras que la parte inferior está cubierta de pelos estrellados y tiene un tono blanquecino (25) (Figura 2).



Figura 2. Hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. (23)

En lo que respecta a la inflorescencia, estas se encuentran en panículas que presentan de 3 a 4 ramificaciones, ubicadas tanto en las zonas terminales como en las axilares de las ramas. Cada panícula contiene entre 6 y 12 flores que miden alrededor de 5 mm de longitud. Estas flores

son bisexuales, compuestas por cuatro partes, desprenden una fragancia agradable y se agrupan en pequeñas cabezas. En cada grupo de flores hay brácteas. El cáliz de las flores es tubular, con lóbulos y está cubierto de pelos estrellados en la parte exterior. Los pétalos de las flores pueden variar en color desde anaranjado hasta amarillo y se unen para formar un tubo corto. Cada flor tiene 4 estambres y un pistilo (Figura 3) (25,26).



Figura 3. Inflorescencia de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. (27)

Por último, los frutos son de pequeño tamaño, con una longitud que ronda los 5 a 6 mm, cápsula septicida, cilíndrica, tomentosa y presenta semillas aladas y diminutas (25,26).

II.1.3. **Distribución y hábitat**

Buddleja incana Ruiz & Pav, comúnmente conocida como "Quishuar" es una planta ubicada principalmente en la región andina de América del Sur (19).

Con respecto a su distribución, esta se centra en Ecuador hacia Bolivia y Chile (28). Esta planta crece en altitudes elevadas, típicamente entre los 1400 y 4500 m.s.n.m en los Andes (19). Se encuentra en hábitats de montaña, en áreas de bosques secos a subhúmedos (25). Suele prosperar en lugares como pastizales, riberas de ríos y matorrales (29).

II.1.4. **Composición química**

La composición química de *Buddleja incana* ha sido investigada mediante tamizaje fitoquímico, sus resultados han aportado con la identificación de algunos metabolitos secundarios como: flavonoides (30), alcaloides (31), saponinas (31), leucoantocianidinas (30), taninos (30) y triterpenoides (31).

Por otra parte, en relación con la actividad antimicrobiana, diversos autores atribuyen esta propiedad a la presencia de compuestos como flavonoides y alcaloides, los cuales se detallan a continuación.

II.1.4.1. Flavonoides

Los flavonoides constituyen una categoría de compuestos químicos pertenecientes al grupo de los polifenoles y se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Estos metabolitos secundarios están presentes en diversas frutas, verduras y especias (32).

Los flavonoides presentan una amplia variedad de propiedades biológicas y han sido objeto de numerosos estudios debido a sus potenciales beneficios para la salud. La literatura científica reporta que estos compuestos confieren actividad antimicrobiana (32,33); asimismo, diversos estudios han demostrado su actividad antiviral (34). Adicionalmente, los flavonoides han sido empleados tradicionalmente en el tratamiento de diversas afecciones, lo que respalda su relevancia terapéutica (35).

En concordancia con lo anterior, el género *Buddleja* es reconocido por exhibir una amplia gama de actividades biológicas, entre las que destaca su actividad antimicrobiana. Estas propiedades se

atribuyen principalmente a su riqueza en metabolitos secundarios, en particular flavonoides, los cuales desempeñan un papel fundamental en la actividad farmacológica observada en las especies de este género (36,37).

Diversos estudios fitoquímicos realizados en especies del género *Buddleja* han evidenciado una marcada presencia de flavonoides. En particular, un estudio desarrollado sobre extractos etanólicos e hidroalcohólicos de las hojas de *Buddleja incana* reportó que los extractos alcohólicos e hidroalcohólicos al 75 % (v/v) de etanol presentaron un elevado contenido de flavonoides, alcanzando valores de 369,24 ± 0,07 mg equivalentes de quercetina por gramo de planta (31).

En otra investigación del extracto metanólico de las hojas de *Buddleja indica* Lam. permitió el aislamiento y la elucidación estructural de varios flavonoides, entre los que se identificaron quercetina 3-O-β-D-glucósido-7-O-α-L-ramnósido, kaempferol 3-O-β-D-glucósido-7-O-α-L-ramnósido, quercetina 7-O-β-D-glucósido y kaempferol (37). Asimismo, mediante análisis fitoquímicos complementarios se ha reportado la presencia de otros flavonoides glicosilados en extractos de *B. indica*, lo que confirma la riqueza en flavonoides del género *Buddleja* y respalda su potencial farmacológico (36)

II.1.4.2. Alcaloides

Los alcaloides son compuestos heterocíclicos nitrogenados, generalmente aislados de plantas. Representan uno de los tipos más importantes de productos naturales debido a su gran número, diversidad y complejidad estructural. Según sus estructuras químicas principales, se clasifican en isoquinolinas, quinolinas, indoles, alcaloides piperidínicos, etc. (38).

Los alcaloides son compuestos estructuralmente diversos que han demostrado tener actividad antimicrobiana (como las quinolonas, el metronidazol y otros) mediante la inhibición de la actividad enzimática u otros mecanismos (39).

Con respecto, a la familia Scrophulariaceae, esta se caracteriza por su abundancia de metabolitos secundarios, destacando compuestos como los alcaloides, a los que se atribuyen múltiples efectos farmacológicos (40).

Además, diversos estudios fitoquímicos y etnofarmacológicos han evidenciado la presencia de alcaloides en varias especies del género *Buddleja*, así como la actividad antimicrobiana de sus extractos. En *Buddleja incana*, los extractos hidroalcohólicos y etanólicos han reportado la presencia de alcaloides (31). De manera similar, en *Buddleja globosa*, el análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanólico de hojas ha descrito la presencia de alcaloides (41). Asimismo, extractos de *Buddleja asiatica* han mostrado actividad antimicrobiana, y en aislamiento se han identificado alcaloides y otros metabolitos secundarios relacionados con dicha actividad biológica (42,43)

Es factible que estos compuestos, contribuyan a la actividad antimicrobiana de la *Buddleja incana*. Sin embargo, se requiere llevar a cabo más investigaciones para identificar de manera específica los elementos químicos responsables de la capacidad antimicrobiana en esta planta.

II.1.5. **Usos en la medicina tradicional**

II.1.5.1. Tratamiento de heridas, verrugas, entre otros.

La planta *Buddleja incana* Ruiz & Pav ha sido empleada para el tratamiento de heridas infectadas y como emplasto antirreumático (19). Según encuestas etnobotánicas, se usa con gran frecuencia

para el tratamiento de la enfermedad de Carrión, enfermedad causada por *Bartonella bacilliformis* (11).

Asimismo, se mencionan algunas formas en las que *Buddleja incana* se ha utilizado tradicionalmente para tratar heridas, verrugas, entre otros:

- **Cataplasma de hojas frescas:** Se pueden machacar las hojas frescas de la planta y aplicarlas directamente sobre las heridas infectadas (19).
- **Infusión de hojas:** Se prepara una infusión con las hojas secas de *Buddleja incana* y esta se emplea para el lavado de heridas (19). También algunas comunidades de Canta (Perú) usan la planta para prevenir infecciones posparto usando hojas en lavados vaginales (19).
- **Decocción de la corteza:** También la ingesta de la decocción de su corteza se ha indicado para el tratamiento de gonorrea y otras infecciones genitales (19).

II.1.5.2. Tratamiento de infecciones

Según información recolectada por comunidades de los Andes, *Buddleja incana* es usada para las infecciones postparto, específicamente, después de dar a luz, se pueden frotar las hojas o las cortezas sobre los genitales (12).

Para evitar las infecciones postparto, otras referencias también recomiendan tomar mate de la raíz de yana kisa, raíz y cáscara de kiswar (*Buddleja incana*), ayrampu y varias k'iri hampikuna (plantas para golpe) (44).

II.1.5.3. Propiedades antiinflamatorias

Esta planta medicinal posee propiedades antiinflamatorias, también se utiliza en afecciones bronquiales, reumáticas y manejo del dolor posiblemente por el efecto antiinflamatorio que varias especies de *Buddleja* han demostrado por intermedio de la

inhibición de mediadores inflamatorios como las lipooxigenasa y ciclooxigenasa (COX) (19). En la ciudad de Veracruz, México se realizaron encuestas etnobotánicas acerca de otras especies de *Buddleja*, como *Buddleja americana*, la población encuestada afirmó que se usa tradicionalmente para tratar la inflamación de piernas y pies (65,85%), para los dolores musculares (17,07%) y para las afecciones de la piel (9,76%) (45).

II.1.6. **Gel dermatológico**

Un gel es una forma farmacéutica de consistencia semisólida diseñada para ser aplicada sobre la piel para tratamientos tópicos. Asimismo, estas se forman al tratar líquidos con gelificantes, es importante destacar que estos geles se distinguen por su capacidad para reducir su viscosidad a la temperatura de la piel, lo que los hace especialmente útiles en áreas con vello corporal. Además, presentan un efecto evanescente, esto implica que se absorben con rapidez en la piel, sin dejar una sensación untuosa o grasosa (46).

Los geles dermatológicos son preparaciones que se emplean para el cuidado y tratamiento de la piel y pueden contener diferentes ingredientes activos, como humectantes, emolientes, agentes limpiadores, antibióticos, entre otros. Además, son una forma farmacéutica útil para el cuidado de la piel, ya que permiten la aplicación tópica de ingredientes activos de manera fácil y cómoda (46).

Se emplean principalmente en zonas pilosas, áreas extensas y lesiones exudativas, además, son particularmente beneficiosos para diversas afecciones cutáneas, como el exceso de secreción sebácea, que incluye condiciones como el acné, la dermatitis seborreica y la rosácea. También son útiles para tratar lesiones húmedas, como heridas o abrasiones. Además, suelen ser una elección adecuada para lesiones inflamatorias que causan picazón, ya que contienen excipientes que promueven la disipación del calor (46).

II.2. Antecedentes del estudio

ANTECEDENTES INTERNACIONALES

A nivel internacional, Tamariz et al. (12) mediante la prueba de difusión, manifestaron actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Buddleja incana* contra *S. aureus*, se demostró que no tenía una diferencia significativa con la estreptomicina, lo que significa que estos extractos tienen la misma actividad que la estreptomicina en la condición descrita. Además, se informó que el extracto mostró una CMI de 3 mg/mL contra *S. aureus*.

Por otra parte, en otras especies del género *Buddleja*, Pendota et al. (47) evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto de hojas de *Buddleja salviifolia*; la fracción de etil acetato (EtOAc) exhibió una buena actividad contra *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* con valores de CMI que oscilaron entre 780,0 y 390,0 µg/mL.

En el estudio de Araya et al. (48) desarrollaron un extracto hidroalcohólico estandarizado de *Buddleja globosa* (BG-126) y una formulación obtenida mediante secado por aspersión (BG-SD), determinando un contenido fenólico total equivalente a 16,9 % de catequina. En relación con la actividad antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa*, se reportó que la formulación BG-SD presentó mayor potencia antimicrobiana, con una CMI de 512 µg/mL de catequina equivalente y 333 µg/mL de verbascósido equivalente.

Por otro lado, Fawzy et al. (49) evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto de hojas de *Buddleja polystachya*; la fracción de EtOAc exhibió una buena actividad contra *Klebsiella pneumoniae (ATCC 31488)* y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) con un valor de CMI de 3,9 µg/mL y 62,5 µg/mL respectivamente.

Mensah et al. (50) encontraron que los extractos lipofílicos de la corteza del tallo de *Buddleja globosa* exhibieron actividad antifúngica a una concentración de 125,0 µg/mL contra tres especies de hongos dermatofitos. Entre los compuestos identificados, las buddledinas A y B mostraron la mayor actividad antifúngica, con valores de 43,0 µM y 51,0 µM, respectivamente. Estos compuestos demostraron su eficacia frente a los hongos sensibles *Trichophyton rubrum, Epidermophyton floccosum* y *Trichophyton interdigitale*.

Khan et al. (51) evaluaron el aceite esencial de hojas de *Buddleja asiatica*. El aceite esencial exhibió una fuerte actividad antibacteriana del 66,0 % contra *Shigella boydii*, mientras que en el ensayo fungicida reveló una inhibición sobresaliente del 79,0 % contra *Aspergillus flavus*.

Zhang et al. (52) llevaron a cabo una investigación en el cual evaluaron las actividades antibacterianas de nueve compuestos de *Buddleja albiflora* contra *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Listeria monocytogenes y Escherichia coli*, solos o en combinación con eritromicina (Ery), gentamicina (Gen) y ampicilina (Amp). Los resultados de este estudio evidenciaron que el metabolito kumatakenina provocó efectos sinérgicos con los tres antibióticos, y que el metabolito crisina mostró un efecto sinérgico con Ery contra *L. monocytogenes*.

Al-Zahrani et al. (53) realizaron la fotosíntesis de nanocompuestos de óxido de plata/óxido de hierro (Ag/Fe_2O_3) a partir del extracto de *Buddleja lindleyana*. Los compuestos Ag/Fe_2O_3 sintetizados, mostraron acción antimicrobiana contra *B. subtilis*, *S. aureus, E. coli* y *P. aeruginosa* con zonas de inhibición de 23,4 ± 0,75, 22,3 ± 0,57, 20,8 ± 1,6 y 19,5 ± 0,5 mm.

Youssef et al. (37) determinaron los fitoconstituyentes y la actividad antimicrobiana de *Buddleja indica* Lam, ello mediante el extracto metanólico de hojas, el cual dió como resultado el aislamiento de 6

compuestos: ácido p -hidroxibenzoico, ácido cafeico, quercetina 3-O- β-D glucósido-7-O- α-L-ramnósido, kaempferol 3-O- β- D glucósido-7-O-α-L-ramnósido, quercetina 7-O- β- D glucósido y kaempferol. Además, el extracto demostró una potente actividad antibacteriana con valores de CMI que oscilaron entre 0,48 y 1,95 µg/mL, siendo *Bacillus subtilis* el más susceptible al efecto del extracto.

Cuevas-Cianca et al. (54) evidenciaron que tanto los extractos y fracciones de cloroformo de *Buddleja perfoliata* exhibieron actividad antimicrobiana frente a diversos patógenos, el extracto clorofórmico de tallos mostró una CMI de 200,0 µg/mL frente a *Mycobacterium abscessus*. Y una de las fracciones mostró una CMI de 100,0 µg/mL frente a *Staphylococcus aureus.*

ANTECEDENTES NACIONALES

Guija et al. (55) obtuvieron extractos de hojas y tallos de *B. incana* colectadas en Huánuco-Perú, con diversos solventes, el hidroalcohólico produjo la mayor cantidad de extracto y en general el 88,96% del total de extractos corresponde a los obtenidos con solventes polares.

Miranda et al. (30) llevaron a cabo la obtención de un extracto metanólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav., a partir del cual lograron identificar diversos metabolitos secundarios de interés, entre ellos flavonoides, esteroides, saponinas y leucoantocianidinas. Estos compuestos respaldan el potencial fitoquímico de la especie y aportan evidencia sobre su posible actividad biológica.

Por otra parte, si bien se encuentran escasos estudios a nivel nacional sobre la actividad antimicrobiana, se han realizado diversas encuestas etnofarmacológicas en comunidades de la población andina. De la Cruz et al. (10) realizaron una encuesta con el objetivo de documentar los usos de las plantas medicinales recurrentes en la conocida provincia de Canta,

departamento de Lima. Se reportó que la gran mayoría de la población usa la planta *Buddleja incana* “Quishuar” para prevenir infecciones posparto.

Asimismo, Gonzalez et al. (11) realizaron encuestas en comunidades de habla quechua de altura que habitan en Callejón de Huaylas (departamento de Ancash, Perú) y en mercados de plantas medicinales cerca de la zona, donde documentaron que en el mayor porcentaje de la población es frecuente la utilización de la planta para aliviar los síntomas y estragos de la llamada enfermedad de Carrión (enfermedad endémica producida por la denominada *Bartonella bacilliformis*), también es importante mencionar que es utilizado en gran frecuencia para higienizar las llagas abiertas y, es conocido como un gran astringente para las verrugas.

Adicionalmente, Tello-Ceron et al. (56), llevaron a cabo una investigación etnobotánica en la comunidad de Quero, la cual se encuentra en el Distrito de Molinos, Provincia de Jauja, dentro de la Región Junín, en Perú, algunas de las plantas estudiadas fueron *Buddleja coriacea* Remy y *Buddleja incana* Ruiz & Pav. de los cual mediante encuestas determinaron que la población utiliza estas plantas como tratamiento para resfríos, enfermedades bronquiales, cicatrizante y para afecciones relacionadas con hongos.

II.3. Glosario de términos

II.3.1. **Actividad antimicrobiana**

La actividad antimicrobiana se evidencia cuando diferentes concentraciones de extractos de plantas en medios de cultivo muestran una inhibición del crecimiento de varias cepas bacterianas (57).

II.3.2. **Cromatografía en capa fina (CCF)**

Las técnicas de cromatografía se caracterizan parcialmente por la presencia de dos fases (estacionaria y móvil), lo que permite la identificación, semicuantificación o cuantificación de compuestos importantes en diferentes matrices (58).

II.3.3. **Concentración mínima inhibitoria (CMI)**

El CMI representa la cantidad más reducida de un agente antimicrobiano que detiene o inhibe por completo el crecimiento microbiano en los pocillos de microdilución, y esto se puede observar de manera visual (59).

II.3.4. **Estudio *in vitro***

Experimentos o pruebas efectuadas en condiciones experimentales controladas fuera del cuerpo, como en una probeta o una placa Petri; estas pruebas suelen dirigirse a componentes celulares, tejidos, órganos, proteínas y/o biomoléculas (60).

II.3.5. **Geles**

Un gel es una estructura continua con dimensiones macroscópicas que permanece estable durante el tiempo que dura un experimento analítico y que muestra un comportamiento reológico similar al de un

sólido. Hace algunos años, el gel también se ha definido como un sistema coloidal con apariencia sólida que puede fluir cuando se le somete a esfuerzos relativamente bajos (61).

II.3.6. **Método de microdilución**

La microdilución es un método crucial para evaluar la susceptibilidad a los antimicrobianos. Involucra preparar diluciones de antimicrobianos en un medio líquido y distribuirlas en una placa de 96 pocillos. Luego, se inoculan con microorganismos estandarizados y se incuba bajo condiciones específicas para el tipo de microorganismo en prueba. Este proceso permite determinar la eficacia de los antimicrobianos contra los microorganismos y es una técnica esencial en microbiología clínica (59).

II.3.7. **Método de difusión en agar**

El método de difusión en agar por pocillos es una técnica utilizada para evaluar la actividad antimicrobiana de sustancias en estado líquido o soluble. Consiste en perforar pequeños orificios (pocillos) en la superficie de una placa de agar previamente inoculada con el microorganismo de interés, y luego llenar estos pocillos con volúmenes definidos del compuesto que se desea analizar. Una vez aplicado el agente, este se difunde radialmente desde el pocillo hacia el medio circundante. Si el compuesto posee actividad antimicrobiana, se forma una zona de inhibición alrededor del pocillo conocido como “halo de inhibición”, es decir, un área libre de crecimiento bacteriano. El diámetro de esta zona de inhibición es directamente proporcional a la eficacia del agente antimicrobiano. Cuanto mayor sea el halo, mayor será la capacidad inhibitoria del compuesto frente al microorganismo evaluado (62).

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

III.1. Hipótesis

H1: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. (“quishuar”) presenta composición química con metabolitos secundarios bioactivos y actividad antimicrobiana, conservando dicha actividad en su formulación como gel dermatológico.

Ho: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. (“quishuar”) no presenta composición química con metabolitos secundarios bioactivos ni actividad antimicrobiana, ni conserva dicha actividad en su formulación como gel dermatológico.

III.2. Variables

III.2.1. **Variable dependiente**

Actividad antimicrobiana

III.2.2. **Variable independiente**

Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav (“Quishuar”)
Gel dermatológico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav (“Quishuar”)

III.3. Operacionalización de variables

Tabla 1. Operacionalización de variables (Fuente: Propia)

VARIABLE(S)	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA	OBSERVACIONES
VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav ("Quishuar").	Cuantitativa	Mezcla de compuestos químicos extraídos de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav	El extracto hidroalcohólico será evaluado a través de la dilución en diferentes concentraciones	Concentraciones del extracto	50 mg/mL 100 mg/mL 150 mg/mL	mg/mL	Córdova & Martínez (2022) (63)
VARIABLE INDEPENDIENTE Gel dermatológico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav ("Quishuar").	Cuantitativa	Gel que contiene una mezcla de compuestos químicos extraídos de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav	El gel dermatológico será evaluado a través de diferentes concentraciones	Concentraciones del gel	1% 3% 5%	%	Córdova & Martínez (2022) (63)
VARIABLE DEPENDIENTE Actividad antimicrobiana	Cuantitativa	Capacidad para inhibir el crecimiento microbiano	La actividad antimicrobiana se medirá a través de la medida de halos de inhibición	Halos de inhibición	mm	Capacidad inhibitoria	Córdova & Martínez (2022) (63)
VARIABLE DEPENDIENTE Actividad antimicrobiana	Cuantitativa	Capacidad para inhibir el crecimiento microbiano	La actividad antimicrobiana se medirá a través de la concentración mínima inhibitoria (CMI)	Concentración mínima inhibitoria	µg/mL	Capacidad inhibitoria	Córdova & Martínez (2022) (63)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Área de estudio

El área de estudio donde se recolectó la planta *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" fue el centro poblado Parcotica que pertenece al distrito de Chinchaypujio, en la provincia de Anta del departamento de Cusco-Perú, con una latitud de 13° 37' 47" Sur y una longitud de 72° 13' 59" Oeste, y una altitud de 3106 msnm (64).

La fase experimental de la investigación, que comprendió la obtención del extracto hidroalcohólico, la caracterización fitoquímica, la evaluación de la actividad antimicrobiana y la formulación del gel dermatológico, se llevó a cabo en el Departamento académico de Química Básica y Aplicada y en el Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo" perteneciente a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicado en la ciudad de Lima, Perú.

IV.2. Diseño de investigación

Cuasiexperimental, analítico y descriptivo

IV.3. Población y muestra

- **Población de estudio:** Planta *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" procedentes del departamento de Cuzco
- **Muestra:** 2 kg de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar"

IV.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información

IV.4.1. Ensayo botánico

(1) Recolección de la planta

La recolección se realizó en la localidad de Parcotica que pertenece al distrito de Chinchaypujio en la provincia de Anta del departamento de Cusco-Perú a una altitud de 3106 m.s.n.m. (64), en el mes de octubre del 2022. Se recolectaron ejemplares de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. ('quishuar') en hojas de papel kraft, lo cual permitió su adecuada conservación para la posterior determinación botánica.

(2) Clasificación taxonómica

La planta recolectada fue identificada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en Lima, con la constancia número 083-USM-MHN-2022 (ver Anexo 1). Según la clasificación del sistema APG IV (2016) (65), se estableció que se trata de *Buddleja incana* Ruiz & Pav.

IV.4.2. Ensayo fitoquímico

IV.4.2.1. Obtención del extracto

La preparación del extracto se procedió según Lock O. (66), primero se seleccionaron hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar", después de haber sido recolectadas en buen estado, las hojas fueron sometidas a un proceso de limpieza y secado a temperatura ambiente. Luego, se procedió a secar las hojas en una estufa de aire circulante a una temperatura de 40 °C por 72 horas para luego ser pulverizadas. Se pesó 100 g de material vegetal pulverizado y la muestra se introdujo en un frasco con cierre hermético y de color ámbar, este frasco contenía 1 L de una mezcla hidroalcohólica de etanol al 99,9 % - agua destilada (50:50). Se dejó macerar a temperatura ambiente durante 7 días, en los cuales se realizó agitación periódica. Posteriormente, la solución se filtró con papel filtro Whatman N° 42 y se secó en estufa de aire circulante a 40°C por 96 horas obteniendo de esta manera el

extracto hidroalcohólico seco de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar".

Adicionalmente, se calculó el rendimiento del extracto como se muestra a continuación:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Masa del extracto seco}}{\text{Masa del material vegetal (hojas) fresco}} x100$$

IV.4.2.2. Evaluación del extracto

a. Ensayo de solubilidad

Se depositaron aproximadamente 25,0 mg del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. ('quishuar') en tubos de ensayo, a los cuales se añadieron 1 mL de diferentes solventes: agua, metanol, etanol, butanol, acetato de etilo, cloroformo y n-hexano; ordenados según su polaridad creciente. (66).

b. Marcha fitoquímica

La identificación se realizó según Lock O. (66), se depositaron aproximadamente 1,0 g del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. ('quishuar') en un tubo de ensayo con 10,0 mL de alcohol de 96%. Luego, se fracciona la solución prepara en diferentes tubos conteniendo 1,0 mL, a los cuales se procederá a añadir diferentes reactivos que generan reacciones cualitativas características para la detección de metabolitos secundarios, estas se describen a continuación:

i. Fenoles y Taninos

- **Reacción con tricloruro férrico ($FeCl_3$):**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 3 gotas de $FeCl_3$ al 10%.

Lectura de resultados: Esta prueba permite identificar compuestos fenólicos. Los taninos hidrolizables generan una coloración azul negruzca, mientras que los taninos condensados (gálicos y catequicos) y los flavonoides producen una coloración verde.

- **Reacción con gelatina:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 3 gotas de gelatina.

  Lectura de resultados: Utilizada para detectar taninos, genera un precipitado blanco denso como resultado positivo.

ii. Flavonoides

- **Reacción de Shinoda:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 2 virutas de magnesio metálico y III gotas de HCl_{cc}.

  Lectura de resultados: Diferencia entre varios tipos de flavonoides. Las chalconas, auronas e isoflavonas no presentan coloración; las isoflavonas pueden tornarse amarillo rojizo; y las flavonolonas generan una coloración entre rojo y magenta.

iii. Aminoácidos y Grupos Amino

- **Reacción de Ninhidrina:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar III gotas de Ninhidrina y calentar en baño maria 10 minutos.

  Lectura de resultados: Detecta aminoácidos libres y grupos amino mediante una coloración violácea intensa.

iv. Alcaloides

- **Reacción de Mayer:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 5 gotas de HCl 10% y 3 gotas de reactivo de Mayer.

  Lectura de resultados: Presencia de precipitado blanco

- **Reacción de Dragendorff:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 5 gotas de HCl 10% y 3 gotas de reactivo de Dragendorff.

  Lectura de resultados: Presencia de precipitado naranja

- **Reacción de Bouchardat:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 5 gotas de HCl 10% y 3 gotas de reactivo de Bouchardat.

  Lectura de resultados: Presencia de precipitado pardo

- **Reacción de Popoff:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 5 gotas de HCl 10% y 3 gotas de reactivo de Popoff.

  Lectura de resultados: Observación de cristales

v. Carbohidratos

- **Reacción de Molish:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 3 gotas de reactivo de Molish y agitar, luego agregar 3 gotas de H_2SO_{4CC}.

  Lectura de resultados: Detecta glucósidos mediante la formación de un anillo violeta.

- **Reacción de Fehling:**

Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 3 gotas de Fehling A y 3 gotas de Fehling B, luego proceder a calentar en baño maría por 10 minutos.

Lectura de resultados: Identifica aldehídos en carbohidratos, generando un precipitado rojo ladrillo.

- **Reacción de Tollens:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 3 gotas de reactivo de Tollens.

  Lectura de resultados: Utilizada para azúcares reductores, produce un precipitado negro.

vi. Terpenos y Esteroides

- **Reacción de Baljet:**
- **Procedimiento:** A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 5 gotas de ácido pícrico 1% y 5 gotas de NaOH al 5%.

  Lectura de resultados: Identifica sesquiterpenlactonas por una coloración anaranjada.
- **Reacción de Lieberman-Bouchard:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 10 gotas de cloroformo y 3 gotas de anhídrido acético, luego añadir H_2SO_{4CC} en el tubo sin agitar.

  Lectura de resultados: Diferencia entre triterpenoides (color rojo-naranja) y esteroides (color verde azulado).

vii. Quinonas

- **Reacción de Bornträger:**

  Procedimiento: A 1 tubo con 1mL de solución preparada anteriormente agregar 3 gotas de reactivo de Bornträger.

Lectura de resultados: Detecta naftoquinonas, antraquinonas y antronas mediante una coloración roja intensa.

IV.4.2.3. Composición química

Según Lock O. (66), se determinó la composición química de la planta *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" mediante ensayos de cromatografía en capa fina, para ello, primero, la muestra fue sembrada y se desarrolló en el sistema de solventes cloroformo: metanol (3:1), posteriormente la cromatoplaca se reveló utilizando una lámpara de luz UV-Vis a longitudes de onda de 254 nm y 365 nm para su revelado. Seguidamente, se llevó a cabo el análisis de los componentes utilizando reactivos cromogénicos como $FeCl_3$, Baljet, H_2SO_4 al 50% y Dragendorff. Se esperaba identificar manchas que correspondieran a potenciales componentes de flavonoides y compuestos fenólicos, entre otros. Posteriormente se realizó la cromatografía con estándares de rutina, quercetina y hesperidina complejo; finalmente se realizó la cromatografía en capa fina a escala preparativa que se utilizará para la determinación de estructuras químicas.

IV.4.2.4. Determinación de estructuras químicas

Las fracciones obtenidas mediante cromatografía en capa fina (CCF) a escala preparativa fueron analizadas con un espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific GENESYS 10S. Las lecturas espectrales fueron realizadas en un rango de 200 a 400 nm. Para la caracterización química, se realizó la desorción de las fracciones en el solvente etanol (EtOH), siguiendo la metodología de Lock (66). Los espectros obtenidos fueron comparados con los espectros publicados por Mabry et al. (67) para identificar las estructuras de flavonoides presentes.

IV.4.3. Ensayos antimicrobianos *in vitro*

IV.4.3.1. Determinación la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* "quishuar" por el método de difusión en agar

La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó mediante el método de difusión en agar, empleando la metodología descrita por Rojas et al. (68), Karki et al. (43) y Boonsai (69) con las adaptaciones correspondientes al presente estudio.

a. Microorganismos de estudio

Para el ensayo se utilizaron los siguientes microorganismos (68):

- **Bacterias:**
  - *Escherichia coli ATCC 25922*
  - *Staphylococcus aureus ATCC 25923*
  - *Bacillus subtilis ATCC 6633*
  - *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*
- **Hongo:**
  - *Candida albicans ATCC 10231*

b. Preparación de las diluciones del extracto

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana, se prepararon diluciones del extracto hidroalcohólico seco de *Buddleja incana* Ruiz & Pav., conocido como "quishuar", a concentraciones de 50 mg/mL, 100 mg/mL y 150 mg/mL (43). La disolución del extracto se realizó utilizando dimetilsulfóxido (DMSO) como vehículo.

c. Preparación del control positivo y control negativo

En el caso de las bacterias, se utilizó ciprofloxacino como control positivo, el cual fue disuelto inicialmente en agua estéril hasta alcanzar una concentración final de 64 µg/mL (0,064 mg/mL). En el caso de la levadura *Candida albicans*, se empleó fluconazol solución inyectable

(100 mg/50 mL) como control positivo, ajustando su concentración final con agua estéril a 200 µg/mL (0,2 mg/mL). Como control negativo se empleó únicamente DMSO. Todas las pruebas se realizaron por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados (68,70).

d. Preparación de los inóculos

Las bacterias fueron inicialmente cultivadas en tubos con caldo TSB e incubadas a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente, con ayuda de un asa de siembra se sembraron en agar Tripticasa Soya (TSA), incubándose nuevamente bajo las mismas condiciones de temperatura y tiempo. En el caso de la levadura, esta fue cultivada en agar Dextrosa Sabouraud. Una vez desarrolladas las colonias, estas se seleccionaron y fueron suspendidas en solución salina (NaCl) estéril al 0,9 %, ajustando la turbidez de la suspensión hasta alcanzar un valor equivalente a 0,5 de la escala de McFarland, correspondiente a una concentración aproximada de 1,0 – 2,0 × 10^8 UFC/mL para bacterias (71) y 1-5 × 10^6 UFC/mL para la levadura (72). La medición se realizó utilizando el Densímetro DEN-1B de la marca Biosan (68).

e. Procedimiento

Se preparó el medio de cultivo agar Mueller Hinton, al cual se le añadió 1 mL de la suspensión del inóculo preparado anteriormente por cada 100 mL de medio, y en el caso de levaduras, en agar Dextrosa Sabouraud. Se homogeneizó y se vertieron 20 mL en placas Petri estériles de 90 x 15 mm de diámetro. Se dejó solidificar a temperatura ambiente (68).

Una vez solidificado el medio, se realizaron pocillos equidistantes en cada placa utilizando un sacabocado estéril de 9,0 mm de diámetro. A continuación, se incorporaron 100 µL de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* (50, 100 y 150 mg/mL), disuelto en DMSO. Las placas se incubaron a 37°C

durante 24 horas. Posteriormente se midieron los halos de inhibición (mm) incluyendo la medida del pocillo. Todas las pruebas se realizaron por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados (69).

f. Interpretación

Una vez terminado la incubación, se procedieron a medir los halos de inhibición generado por el extracto (zonas en dónde se evidencia la inhibición del crecimiento), esto se realizó con ayuda de un vernier.

g. Análisis estadístico

El ensayo se realizó por triplicado, basándose en estos tres resultados, se procedió a calcular la media y la desviación estándar (± D.E). Por consiguiente, el valor de la medida del halo de inhibición se informa como el promedio de las lecturas junto con su desviación estándar, se aplica estadística descriptiva utilizando el software estadístico Minitab versión 20 (73). Asimismo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía (one way) para el caso de la levadura y un análisis de varianza de dos vías (two way) para las bacterias. Posteriormente, se aplicó la prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple de medias y se verificó el supuesto de homogeneidad de varianzas.

IV.4.3.2. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* "quishuar" por el método de Microdilución colorimétrico en microplaca.

El procedimiento se fundamenta en la supresión del desarrollo bacteriano al diluir el extracto correspondiente (compuestos activos) en un medio líquido. Se busca demostrar la falta de crecimiento en los pozos mediante el uso de resazurina, un indicador redox que marca la presencia de microorganismos vivos. Este procedimiento se llevó a cabo siguiendo el método modificado de Sarker et al. (74), Cardenas (75), Liu (76)y Ruiz (77).

a. Microorganismos de estudio

Para el ensayo se utilizaron los siguientes microorganismos (74):

- **Bacterias:**
  - *Escherichia coli ATCC 25922*
  - *Staphylococcus aureus ATCC 25923*
  - *Bacillus subtilis ATCC 6633*
  - *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*
- **Hongo:**
  - *Candida albicans ATCC 10231*

b. Preparación de las diluciones del extracto

La preparación de las diluciones del extracto hidroalcohólico seco concentrado de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. "quishuar" se realizó incorporando 1 g del extracto en 5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) como medio diluyente. A partir de esta solución madre (200 mg/mL), se realizaron diluciones sucesivas en DMSO para obtener concentraciones intermedias. Posteriormente, para el ensayo realizado en las bacterias, se prepararon las concentraciones finales mediante una dilución 1:50, utilizando 1470 µL de caldo Mueller Hinton (CMH) y 30 µL de las concentraciones intermedias, alcanzando así un rango de concentraciones finales entre 7,8125 y 4000 µg/mL. En el caso de la levadura, el procedimiento fue similar, con la diferencia de que se empleó caldo RPMI 1640 (con glutamina y rojo de fenol, sin bicarbonato) como medio para la dilución final en lugar de CMH, manteniéndose la misma proporción (1470 µL de medio + 30 µL de concentración intermedia) y el mismo rango de concentraciones (72,74,75). A continuación, se presentan los respectivos esquemas de diluciones en las Tablas 2 y 3.

Tabla 2. Esquema de diluciones del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. “quishuar” frente a cepas bacterianas Ec, Sa, Bs y Pa (*)

Paso	Concentración (µg/mL)	Fuente	Volumen (mL)	Solvente (mL) DMSO	Concentración Intermedio (µg/mL)	Concentración Final 2x con CMH(**) 1:50 (µg/mL)
1	200 000	Stock	-	-	200 000	4000
2	200 000	Stock	0,2	0,2	100 000	2000
3	200 000	Stock	0,2	0,6	50 000	1000
4	200 000	Stock	0,2	1,4	25 000	500
5	25 000	Paso 4	0,2	0,2	12 500	250
6	25 000	Paso 4	0,2	0,6	6250	125
7	2500	Paso 4	0,2	1,4	3125	62,5
8	3125	Paso 7	0,2	0,2	1562,5	31,25
9	3125	Paso 7	0,2	0,6	781,25	15,625
10	3125	Paso 7	0,2	1,4	390,625	7,8125

(*) Ec, Sa, Bs y Pa: *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis y Pseudomonas aeruginosa*

(**) CMH: Caldo Mueller Hilton

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3. Esquema de diluciones del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. "quishuar" frente a la levadura *C. albicans*

Paso	Concentración (µg/mL)	Fuente	Volumen (mL)	Solvente (mL) DMSO	Concentración Intermedio (µg/mL)	Concentración Final 2x con Caldo RPMI 1640(*) 1:50 (µg/mL)
1	200 000	Stock	-	-	200 000	4000
2	200 000	Stock	0,2	0,2	100 000	2000
3	200 000	Stock	0,2	0,6	50 000	1000
4	200 000	Stock	0,2	1,4	25 000	500
5	25 000	Paso 4	0,2	0,2	12 500	250
6	25 000	Paso 4	0,2	0,6	6250	125
7	2500	Paso 4	0,2	1,4	3125	62,5
8	3125	Paso 7	0,2	0,2	1562,5	31,25
9	3125	Paso 7	0,2	0,6	781,25	15,625
10	3125	Paso 7	0,2	1,4	390,625	7,8125

(*) RPMI 1640: Caldo Roswell Park Memorial Institute 1540 (con glutamina y rojo de fenol, sin bicarbonato)

Fuente: Elaboración propia

c. Preparación de los inóculos

Las bacterias (*S. aureus, B. Subtilis, E. coli* y *P. aeruginosa*) se sembraron en agar Tripticasa Soya (TSA) y la levadura (*C. albicans*) en agar dextrosa Sabouraud. Después, se suspendieron las cepas frescas de los microorganismos en una solución estéril de solución salina al 0,9% y se determinó la turbidez proporcional a 0,5 de la escala de McFarland en el Densitómetro McFarland DEN-1 de la marca Biosan. Esto equivale a una concentración aproximada de 1,0 – 2,0 × 10^8 UFC/mL para bacterias (71) y 1,0 – 5,0 × 10^6 UFC/mL para la levadura (72). Posteriormente, en el caso de las bacterias, se realizan dos diluciones sucesivas de 1:30 y 1:5 con caldo Mueller Hinton (CMH). Asimismo, a esos 6,0 mL obtenidos, se añadió 30 uL de resazurina (20 mg/mL) (74,75).

En el caso de la levadura *C. albicans*, se realizan igualmente dos diluciones: la primera, 1:50 en caldo Mueller-Hinton (CMH), y la segunda, 1:20 en caldo RPMI 1640. Asimismo, a los 12,0 mL obtenidos se les añadió 60 µL de resazurina (20 mg/mL) (77).

d. Preparación del control de esterilidad

En un vial estéril de capacidad suficiente, en el caso de las bacterias, se incorporó 5000 µL de caldo Mueller Hinton (CMH) y se añadió 25 µL de reactivo resazurina (20 mg/mL). Para la levadura, se incorporó 2500 µL del caldo RPMI 1640 y se añadió 12,5 µL de reactivo resazurina (20 mg/mL) (72,74).

e. Preparación del control positivo

Como controles positivos, se utilizó ciprofloxacino disuelto en agua a una concentración inicial de 640 µg/mL para las bacterias, obteniéndose un rango de concentración final de 0,25 a 64,0 µg/mL.

En el caso de la levadura, se empleó fluconazol disuelto en DMSO a una concentración inicial de 6400 µg/mL, logrando igualmente un rango final de 0,25 a 64,0 µg/mL. Tal cual, se muestran en las tablas 5 y 6 (74,75).

f. Adición de las muestras e incubación de las placas

Se empleó una microplaca estéril de 96 pocillos con fondo en forma de "U". La primera columna fue seleccionada como control de esterilidad (CE) y la última columna como control de crecimiento (CC). En las columnas del 1 al 10, se agregaron 100 µL de los extractos hidroalcohólicos o control positivo, en dilución previa (Tablas 2,3,4 y 5) en los pocillos y luego se adicionó 100 µL de los respectivos inóculos con el indicador resazurina (20 mg/mL), posteriormente se llevó a incubación por 24 horas a 35°C +/-2 ºC (74,75).

Tabla 4. Esquema de dilución del ciprofloxacino

Paso	Fuente	Concentración (µg/mL)	Volumen (mL)	CMH(*) (mL)	Concentración Final 2x con CMH(*) (µg/mL)
CIP 1	Stock	640	1,0	4	128
CIP 2	CIP 1	128	0,8	0,8	64
CIP 3	CIP 1	128	0,5	1,5	32
CIP 4	CIP 1	128	0,5	3,5	16
CIP 5	CIP 4	16	0,8	0,8	8
CIP 6	CIP 4	16	0,5	1,5	4
CIP 7	CIP 4	16	0,5	3,5	2
CIP 8	CIP 7	2	0,8	0,8	1
CIP 9	CIP 7	2	0,5	1,5	0,5
CIP 10	CIP 7	2	0,5	3,5	0,25

(*) CMH: Caldo Mueller Hilton

Fuente: Elaboración propia

Tabla 5. Esquema de dilución del fluconazol

Paso	Concentración (µg/mL)	Fuente	Volumen (mL)	Solvente (mL) DMSO	Concentración Intermedio (µg/mL)	Concentración Final 2x con Caldo RPMI 1640(*) 1:50 (µg/mL)
FLUC 1	6400	Stock	-	-	6400	128
FLUC 2	6400	Stock	0,2	0,2	3200	64
FLUC 3	6400	Stock	0,2	0,6	1600	32
FLUC 4	6400	Stock	0,2	1,4	800	16
FLUC 5	800	Paso 4	0,2	0,2	400	8
FLUC 6	800	Paso 4	0,2	0,6	200	4
FLUC 7	800	Paso 4	0,2	1,4	100	2
FLUC 8	100	Paso 7	0,2	0,2	50	1
FLUC 9	100	Paso 7	0,2	0,6	25	0,5
FLUC 10	100	Paso 7	0,2	1,4	12,5	0,25

(*) RPMI 1640: Caldo Roswell Park Memorial Institute 1540 (con glutamina y rojo de fenol, sin bicarbonato)

Fuente: Elaboración propia

g. Interpretación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se realizó la evaluación de los resultados mediante observación visual, identificando el cambio de color de púrpura a rosado o incoloro como indicativo de resultados positivos. Se estableció como CMI aquella en la que no se detectó cambio de color, siendo esta la concentración más baja evaluada (74).

h. Análisis estadístico

El ensayo se realizó por triplicado, basándose en estos tres resultados, se procedió a calcular la media y la desviación estándar (± D.E). Por consiguiente, el valor de la CMI se informa como el promedio de las lecturas junto con su desviación estándar, se aplica estadística descriptiva utilizando el software estadístico Minitab versión 20 (73).

IV.4.4. Ensayo farmacotécnico

IV.4.4.1. Elaboración del gel dermatológico

Para la preparación del gel se siguió el procedimiento dado por Jantarat (78) y Condori (79). En primer lugar, se preparó un total de 100 g de gel base para control negativo y 100 g de gel con el extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. “quishuar” al 1%, 3% y 5%.

En las siguientes tablas se presenta la formulación del gel base (Tabla 6) y con el extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. al 1% (Tabla 7), al 3% (Tabla 8) y al 5% (Tabla 9)

Tabla 6. Formulación gel base

Formulación		
Materia Prima	**Cantidad (%)**	**En g**
Propilenglicol	5,0%	5,0 g
Glicerina	10,0 %	10,0 g
Carbopol 940	1,0 %	1,0 g
Propilparabeno	0,1 %	0,1 g
Metilparabeno	0,1 %	0,1 g
Trietanolamina sol. 20%	Ajuste de pH 5,0 – 6,0	
Agua purificada C.S.P	100,0 %	100,0 g

Tabla 7. Formulación gel del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" al 1%

Formulación		
Materia Prima	**Cantidad (%)**	**En g**
Extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar"	1,0 %	1,0 g
Propilenglicol	5,0%	5,0 g
Glicerina	10,0 %	10,0 g
Carbopol 940	1,0 %	1,0 g
Propilparabeno	0,1 %	0,1 g
Metilparabeno	0,1 %	0,1 g
Trietanolamina sol. 20%	Ajuste de pH 5,0 – 6,0	
Agua purificada C.S.P.	100,0 %	100,0 g

Tabla 8. Formulación gel del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" al 3%

Formulación		
Materia Prima	**Cantidad (%)**	**En g**
Extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar"	3,0 %	3,0 g
Propilenglicol	5,0%	5,0 g
Glicerina	10,0 %	10,0 g
Carbopol 940	1,0 %	1,0 g
Propilparabeno	0,1 %	0,1 g
Metilparabeno	0,1 %	0,1 g
Trietanolamina sol. 20%	Ajuste de pH 5,0 – 6,0	
Agua purificada C.S.P.	100,0 %	100,0 g

Tabla 9. Formulación gel del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" al 5%

Formulación		
Materia Prima	**Cantidad (%)**	**En g**
Extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar"	5,0 %	5,0 g
Propilenglicol	5,0 %	5,0 g
Glicerina	10,0 %	10,0 g
Carbopol 940	1,0 %	1,0 g
Propilparabeno	0,1 %	0,1 g
Metilparabeno	0,1 %	0,1 g
Trietanolamina sol. 20%	Ajuste de pH 5,0 – 6,0	
Agua purificada C.S.P.	100,0 %	100,0 g

a. Procedimiento de elaboración del gel base:

1. En un recipiente, que contiene aprox. 20 mL de agua se disolvió 1 g de Carbopol 940.
2. Posteriormente, en un beaker a parte se disolvió 0,1 g de metilparabeno y 0,1 g de propilparabeno en 5,0 g de propilenglicol, se mantuvo una temperatura de 65-70°C con ayuda de un baño maría, se dispersó con una bagueta durante 5 minutos.
3. Se incorporó la solución del paso 2 en el paso 1.
4. Se incorporó en el paso 3, 10,0 g de glicerina.
5. Se incorporó en el paso 4, una solución al 20% de trietanolamina y se ajustó a un pH 5,0 – 6,0.
6. Se completa con agua purificada c.s.p 100,0 g y se procedió a homogeneizar.

b. Procedimiento de la elaboración del gel del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" al 1%, 3% y 5%:

1. En un recipiente, que contiene aprox. 20 mL de agua se disolvió 1,0 g de Carbopol 940.
2. Posteriormente, en un beaker a parte se disolvió 0,1 g de metilparabeno y 0,1 g de propilparabeno en 5,0 g de propilenglicol, se mantuvo una temperatura de 65-70°C con ayuda de un baño maría, se dispersó con una bagueta durante 5 minutos.
3. Se incorporó la solución del paso 2 en el paso 1.
4. Se incorporó en el paso 3, 10,0 g de glicerina.
5. Adicionalmente, en un recipiente con contenido aprox. de 20 mL de agua purificada se disolvió el extracto seco de *Buddleja incana* según las distintas concentraciones requeridas (1,0 g para 1%, 3,0 g para 3% o 5,0 g para 5%)
6. Se incorporó la solución del paso 5 en el paso 4.
7. Se incorporó en el paso 6, una solución al 20% de trietanolamina y se ajustó a un pH 5,0 - 6,0.
8. Se completa con agua purificada c.s.p 100,0 g y se procedió a homogeneizar.

IV.4.4.2. Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* del gel

La evaluación de la actividad antimicrobiana del gel dermatológico se realizó mediante el método de difusión en agar (80,81).

c. Microorganismos de estudio

Para el ensayo se utilizaron los siguientes microorganismos:

- *Escherichia coli ATCC 25922*
- *Staphylococcus aureus ATCC 25923*
- *Bacillus subtilis ATCC 6633*
- *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*
- *Levadura Candida albicans ATCC 10231*

d. Preparación de las muestras

Se utilizaron geles de *Buddleja incana* preparados según la metodología previamente descrita, en concentraciones de 1 %, 3 % y 5 %.

e. Preparación del control positivo y control negativo

En el caso de las bacterias, se utilizó ciprofloxacino como control positivo, el cual fue disuelto inicialmente en agua estéril hasta alcanzar una concentración final de 64 µg/mL (0,064 mg/mL). En el caso de la levadura *Candida albicans*, se empleó fluconazol solución inyectable (100 mg / 50 mL) como control positivo, ajustando su concentración final con agua estéril a 0,2 mg/mL (43,70). Como control negativo se empleó el gel base formulado. Todas las pruebas se realizaron por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

f. Preparación de los inóculos

Al igual que en el caso de los extractos, las bacterias fueron inicialmente cultivadas en tubos con caldo TSB e incubadas a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente, con ayuda de un asa de siembra se sembraron en agar Tripticasa Soya (TSA) incubándose nuevamente

bajo las mismas condiciones de temperatura y tiempo. En el caso de la levadura, esta fue cultivada en agar Dextrosa Sabouraud. Una vez desarrolladas las colonias, estas se seleccionaron y fueron suspendidas en solución salina (NaCl) estéril al 0,9 %, ajustando la turbidez de la suspensión hasta alcanzar un valor equivalente a 0,5 de la escala de McFarland, correspondiente a una concentración aproximada de 1,0 – 2,0 × 10^8 UFC/mL para bacterias (71) y 1,0 – 5,0 × 10^6 UFC/mL para la levadura (72). La medición se realizó utilizando el Densímetro DEN-1B de la marca Biosan (68).

g. Procedimiento

Se preparó el medio de cultivo agar Mueller Hinton, al cual se le añadió 1 mL de la suspensión del inóculo preparado anteriormente por cada 100 mL de medio, y en el caso de levaduras, en agar Dextrosa Sabouraud. Se homogeneizó y se vertieron 20 mL en placas Petri estériles de 90 mm × 15 mm de diámetro. Se dejó solidificar a temperatura ambiente (68).

Una vez solidificado el medio, se realizaron pocillos equidistantes en cada placa utilizando un sacabocado estéril de 9,0 mm de diámetro (69). A continuación, se llenaron los pocillos con las concentraciones de gel formuladas, el cual equivale a un volumen promedio de 100 µL del gel de *Buddleja incana*. Se permitió que reposara a temperatura ambiente durante 1 hora y posteriormente se incubó a 37°C durante 24 horas. Se empleó como control negativo el gel base sin extracto y se comparó con la solución de ciprofloxacino (0,064 mg/mL) para el caso de bacterias y fluconazol (0,02 mg/mL) para el caso de la levadura. Posteriormente se midieron los halos de inhibición (mm) incluyendo la medida del pocillo. Esta medición nos permitió relacionar la sensibilidad del microorganismo a las concentraciones del gel de *Buddleja incana*, según el diámetro del halo (80,81).

Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Todas las pruebas se realizaron por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados (68).

h. Análisis estadístico

El ensayo de la evaluación de la actividad antimicrobiana del gel de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" a concentraciones 1,0%, 3,0% y 5,0% se realizó por triplicado. Basándose en estos tres resultados, se procedió a calcular la media y la desviación estándar (± D.E). Por consiguiente, el valor de la medida del halo de inhibición se informa como el promedio de las lecturas junto con su desviación estándar, se aplica estadística descriptiva utilizando el sofware estadístico Minitab versión 20 (73). Asimismo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía (one way) para el caso de la levadura y un análisis de varianza de dos vías (two way) para las bacterias. Posteriormente, se aplicó la prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple de medias y se verificó el supuesto de homogeneidad de varianzas.

IV.4.4.3. Ensayos de Estabilidad

a. Pruebas fisicoquímicas

Las formulaciones en gel que contenían el extracto de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" al 1%, 3% y 5% se sometieron a pruebas de aspecto, color, olor, presencia de grumos, untuosidad al tacto, extensibilidad y pH. El aspecto, color, y presencia de grumos se evaluaron mediante inspección visual. El pH se determinó con un pH-metro digital marca Mettler Toledo (78).

b. Prueba en centrifugación

Los geles formulados fueron sometidos a la prueba de centrifugación. Se centrifugó a 3 000 rpm durante 30 minutos para determinar si existe alguna separación del producto (82).

c. Estabilidad preliminar

El estudio de estabilidad preliminar consiste en la realización de la prueba al inicio del desarrollo del producto, ello con el fin de observar cambios organolépticos y fisicoquímicos del producto.

Asimismo, en los geles, las 3 concentraciones se sometieron a temperaturas altas y bajas, así como cambios de temperatura, ello tuvo como fin acelerar posibles reacciones entre los compuestos de la formulación. Cabe mencionar, que este estudio no tiene la finalidad de estimar la vida útil del producto, sino de auxiliar en la selección de la formulación (83).

La formulación fue sometida a las siguientes condiciones (83):

- Temperatura alta Estufa: T = 40 ± 2°C por 15 días.
- Temperatura baja Nevera: T = 5 ± 2°C por 15 días.
- Ciclos térmicos (estrés) : ciclos de 24 horas a 40 ± 2°C, 24 horas a 4 ± 2°C por 15 días.

V. RESULTADOS

V.1. Identificación del material biológico

Un ejemplar de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" fue recolectada en el distrito de Chinchaypujio en la provincia de Anta del departamento de Cusco, luego fue trasladado al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en donde se llevó a cabo el reconocimiento taxonómico La información resultante se sintetiza en la Tabla 10 y se describe en detalle en el Anexo 1.

Tabla 10. Clasificación taxonómica de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar"

Clase	Equisctopsida
Subclase	Magnoliidae
Superorden	Asteranse
Orden	Lamiales
Familia	Scrophulariaceae
Género	*Buddleja*
Especie	*Buddleja incana* Ruiz & Pav.

Fuente: Museo de Historia Natural -UNMSM

V.2. Obtención y concentración de los extractos de *Buddleja incana* Ruiz & Pav

A partir de 112,8 g de hojas frescas, se obtuvieron 100 g de hojas secas pulverizadas, luego, se colocó en una mezcla hidroalcohólica (50:50). Se maceró por 7 días, luego se filtró y se secó en estufa, obteniéndose 10,73 g de extracto seco. Este valor representa un rendimiento del 9,51 % con respecto al peso inicial del material vegetal fresco, se evidencia en la Figura 4.



Figura 4. Procedimiento de la obtención del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav **Fuente:** Elaboración propia

V.3.Ensayo de solubilidad

En la marcha de solubilidad, se detectó que el extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav fue soluble en metanol y etanol; parcialmente soluble en agua; poco soluble en butanol e insoluble en acetato de etilo, cloroformo y n-Hexano, ver Tabla 11 y Figura 5.

Tabla 11. Marcha de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav.

Solvente	Resultados
Agua	++
Metanol	+++
Etanol	+++
Butanol	+
Acetato de etilo	-
Cloroformo	-
n-Hexano	-

Leyenda: (+++) Soluble; (++) Parcialmente soluble; (+) Poco soluble; (-) Insoluble



Figura 5. Resultados del ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. 1) Agua; 2) Metanol; 3) Etanol; 4) Butanol 5) Acetato de etilo; 6) Cloroformo; 7) n-Hexano. **Fuente:** Propia

V.4.Marcha fitoquímica

La marcha fitoquímica realizada al extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. permitió detectar la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, carbohidratos, entre otros (Tabla 12, Figura 6 y 7).

Tabla 12. Reacciones químicas y su identificación de compuestos del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav.

Prueba cualitativa	Identificación de compuestos	Reacción positiva	Resultados
Ticloruro férrico ($FeCl_3$)	Compuestos fenólicos	Taninos condensados (gálicos y/o catéquicos), flavonoides: verde	+++
Gelatina	Taninos	Precipitado denso blanco	+++
Shinoda	Flavonoides	Isoflavanonas: amarillo rojizo.	++
Ninhidrina	Aminoácidos libres y grupos amino	Coloración violácea	-
Mayer	Alcaloides	Precipitado blanco	+++
Dragendorff		Precipitado Naranja	+++
Bouchardat		Precipitado pardo	+
Popoff		Observación de cristales	+
Molish	Carbohidratos (Glicósidos)	Anillo violeta	+++
Fehling	Carbohidratos (Aldehídos)	Precipitado rojo ladrillo	+
Baljet	Sesquiterpenlactonas	Coloración anaranjada	+++
Tollens	Azúcares reductores	Precipitado negro	+++
Bontrager	Naftaquinonas, antraquinonas y antronas	Coloración roja	++
Lieberman-Bouchard	Triterpenoides y esteroides	Triterpenoides: Rojo-naranja	+++

Leyenda: (++++)Abundante ;(+++)Bastante; (++)Regular; (+)Poco; (-)Ausente

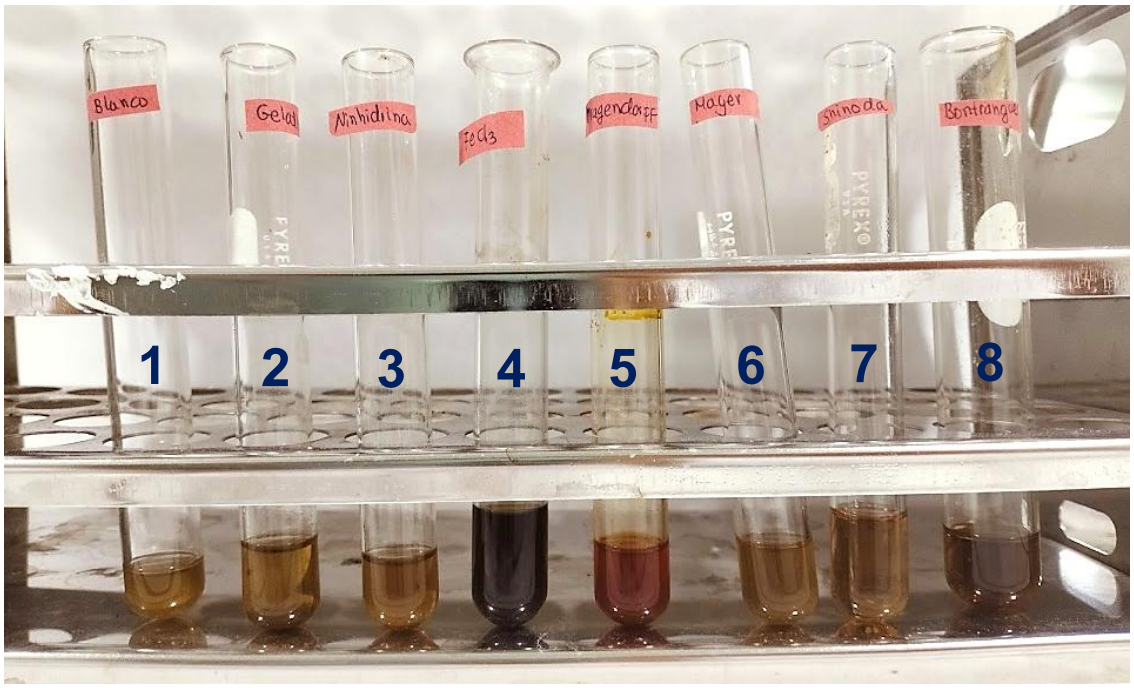


Figura 6. Resultados 1era parte del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav 1) Blanco. 2) Gelatina. 3) Ninhidrina. 4) Tricloruro férrico (FeCl3). 5) Dragendorff. 6) Mayer. 7) Shinoda. 8) Bontranger. Fuente: Propia.

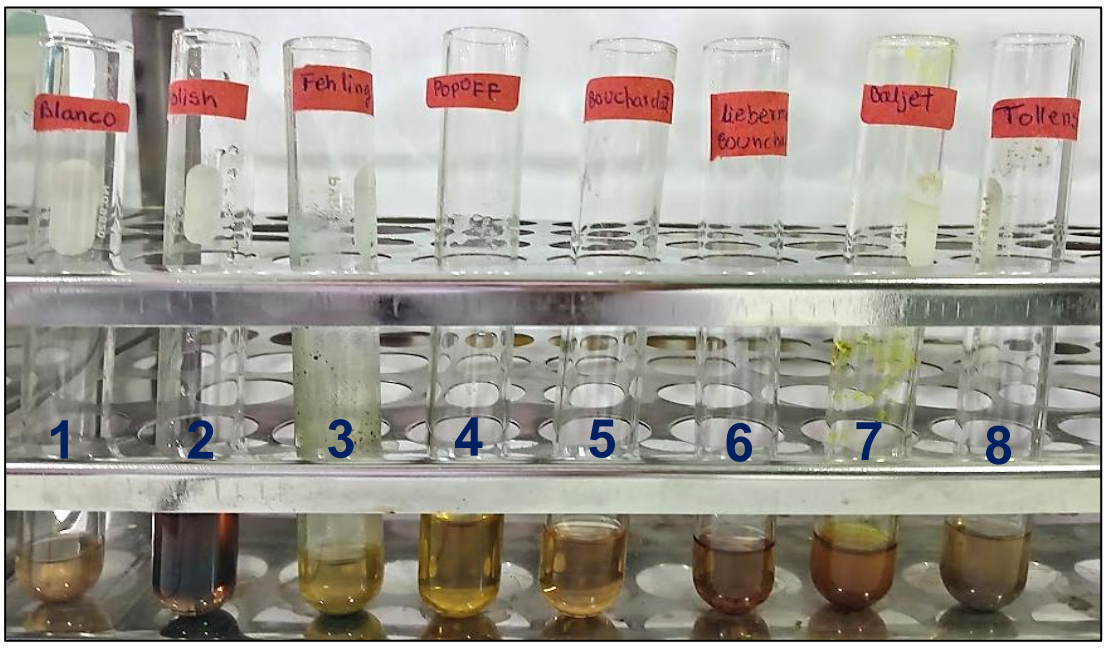


Figura 7. Resultados 2da parte del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav 1) Blanco. 2) Molish. 3) Fehling. 4) Popoff. 5) Bouchardart. 6) Lieberman-Bouchard. 7) Baljet. 8) Tollens. **Fuente:** Propia.

V.5.Composición química

En la cromatografía en capa fina analítica bajo el sistema de solventes Cloroformo: Metanol (3:1) y revelado en luz UV 254 nm y 365 nm se encontraron 12 fracciones determinando el factor de retención (Rf) en cada mancha, estás fueron reveladas con reveladores cromogénicos $FeCl_3$, Baljet, Dragendorff y H_2SO_4 al 50% (Tabla 13,14 y Figura 8,9).

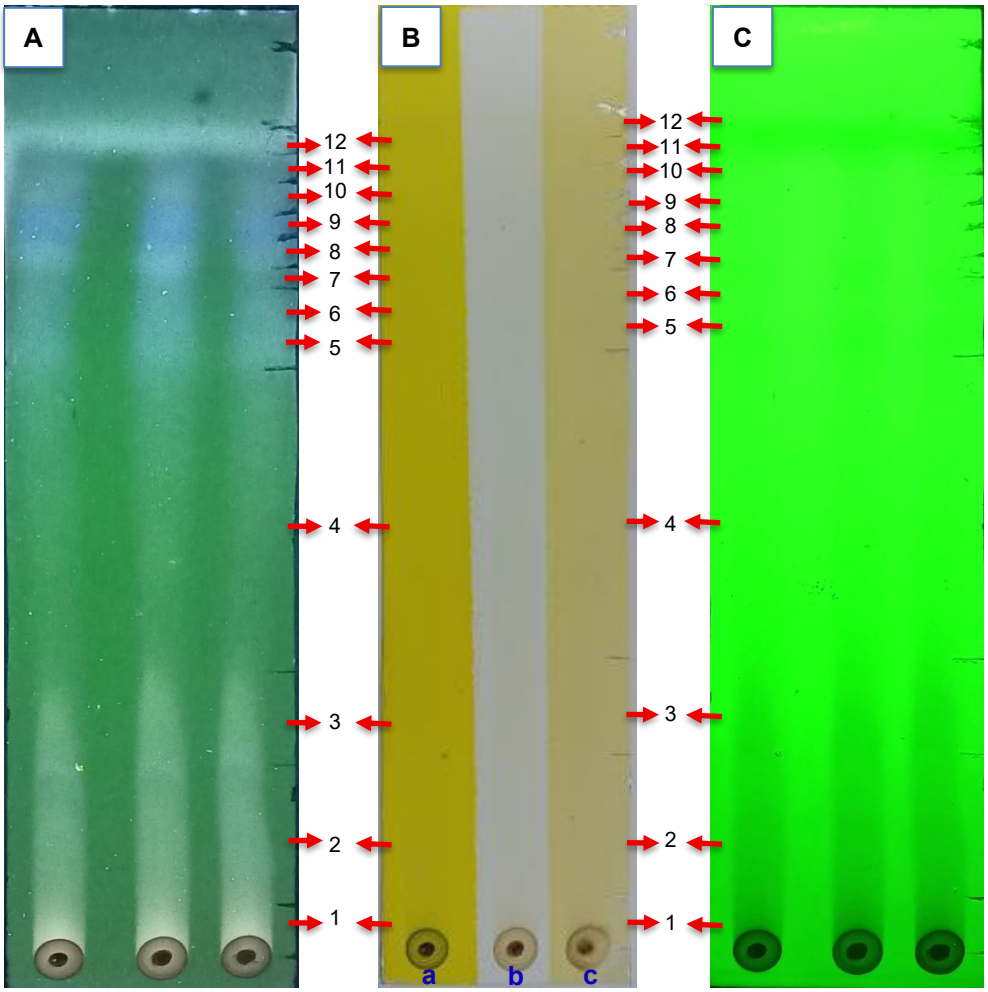


Figura 8. Resultados de cromatografía en capa fina (CCF) del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. **A.** Luz UV 254 nm. **B.** Resultados con reveladores cromogénicos a luz visible (*). *Reveladores: a) $FeCl_3$. b) Extracto. c) Baljet. **C.** Luz UV 365 nm. **Fuente:** Propia

Tabla 13. Rfs Reveladores cromogénicos en Cromatografía en capa fina del extracto de *Buddleja incana* Ruiz y Pav.

	Analitos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reveladores	Baljet	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	++
	$FeCl_3$	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Rf	0,030	0,137	0,269	0,449	0,618	0,704	0,761	0,790	0,817	0,844	0,874	0,903

Leyenda: Abundante (+++); Regular (++); Poco (+); Ausente (-)

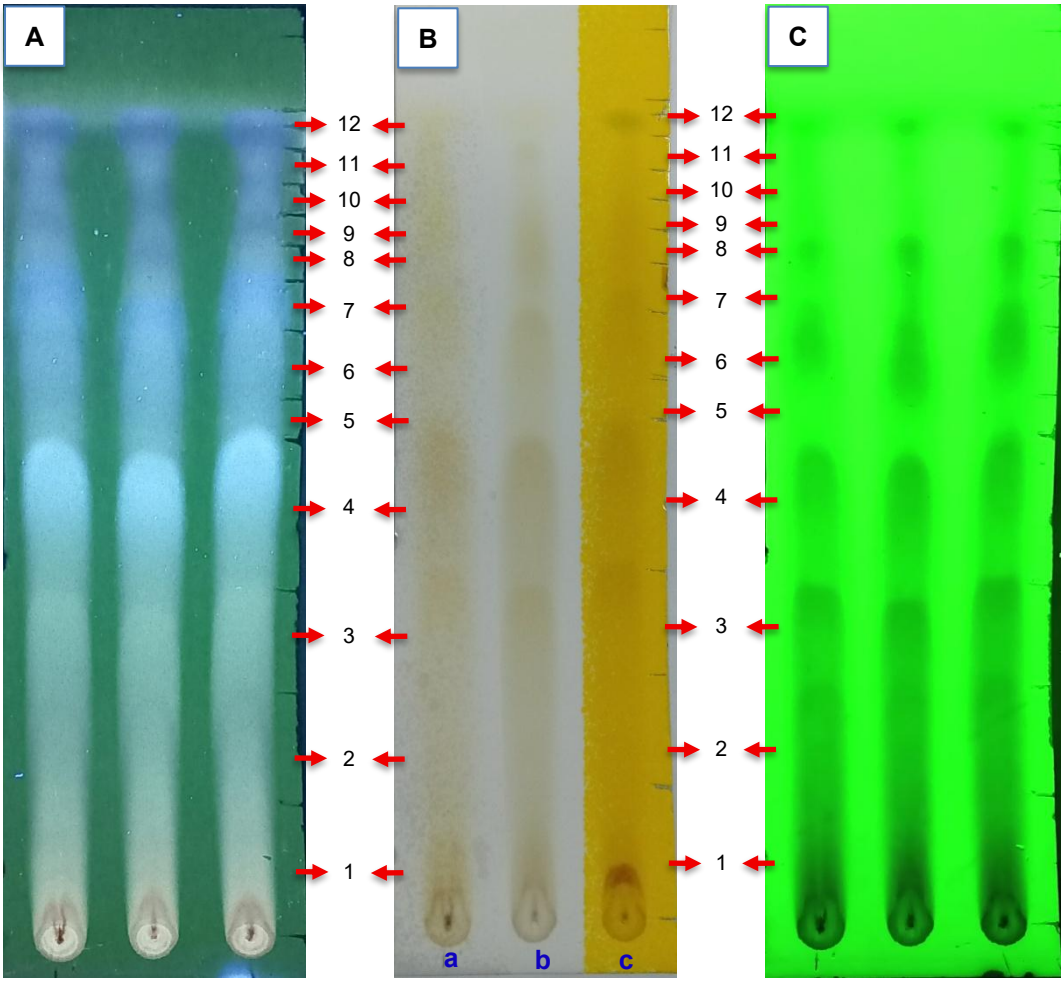


Figura 9. Resultados de CCF del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. **A.**Luz UV254 nm. **B.**Resultados con reveladores cromogénicos a luz visible (*). *Reveladores: a) H_2SO_4 al 50%. b) Extracto. c)Dragendorff. **C.**Luz UV 365nm. **Fuente:** Propia

Tabla 14. Rfs reveladores cromogénicos Cromatografía en capa fina del extracto de *Buddleja incana* Ruiz y Pav.

	Analitos	1	2	3	5	6	7	8	9	10	11	12
Revel	H_2SO_4 al 50%	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	++
	Dragendorff	+++	++	++	-	++	-	-	-	-	-	+++
	Rf	0,069	0,199	0,315	0,561	0,621	0,688	0,737	0,777	0,812	0,847	0,893

Leyenda: Abundante (+++); Regular (++); Poco (+); Ausente (-)

Al desarrollar la cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico frente a los estándares de rutina, quercetina y hesperidina complejo, se observó fluorescencias y distancias recorridas similares tantos de los estándares y la muestra de estudio al ser reveladas bajo luz UV de 254 y 365 nm (Figura 10 y Tabla 15,16).

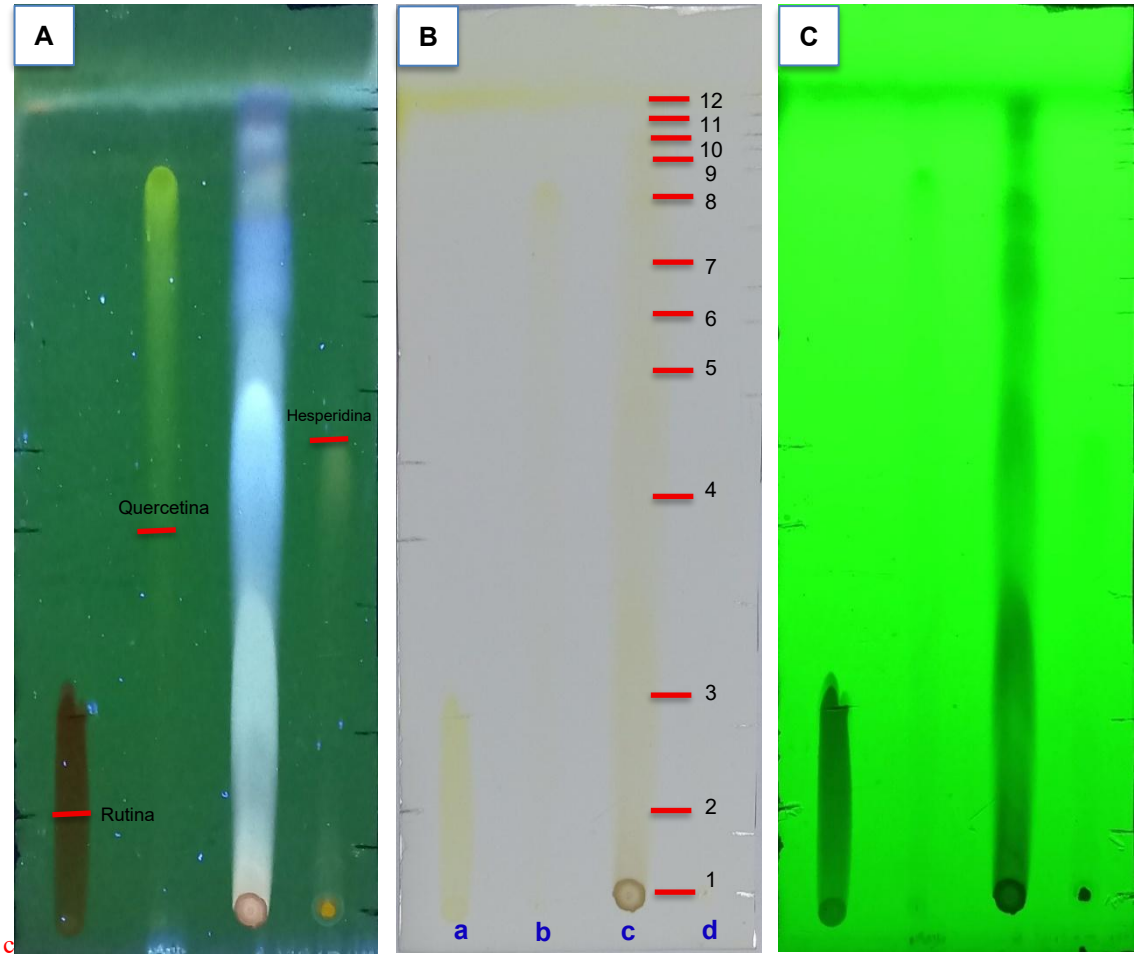


Figura 10. Resultados de CCF con estándares del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. **A.** Luz UV 254 nm. **B.** Luz visible. **C.** Luz UV 365 nm. a) Rutina. b) Quercetina. c) Extracto. d) Hesperidina complejo.

Fuente: Propia

Tabla 15. Rfs Cromatografía en capa fina del extracto de *Buddleja incana* Ruiz y Pav.

Rf	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Extracto	0,034	0,135	0,267	0,454	0,617	0,675	0,727	0,791	0,834	0,853	0,865	0,890

Tabla 16. Rfs Estándares en Cromatografía en capa fina del extracto de *Buddleja incana* Ruiz y Pav.

Estándar	Rf
Rutina	0,098
Quercetina	0,411
Hesperidina complejo	0,497

Después de detectar los 12 analitos mediante cromatografía en capa fina analítica, se procedió a aislar cada uno de ellos mediante cromatografía en capa fina preparativa en el sistema de solventes Cloroformo: Metanol (3:1) (Figura 11 y Tabla 17), para su posterior desorción y lectura en el espectrofotómetro UV-Vis.

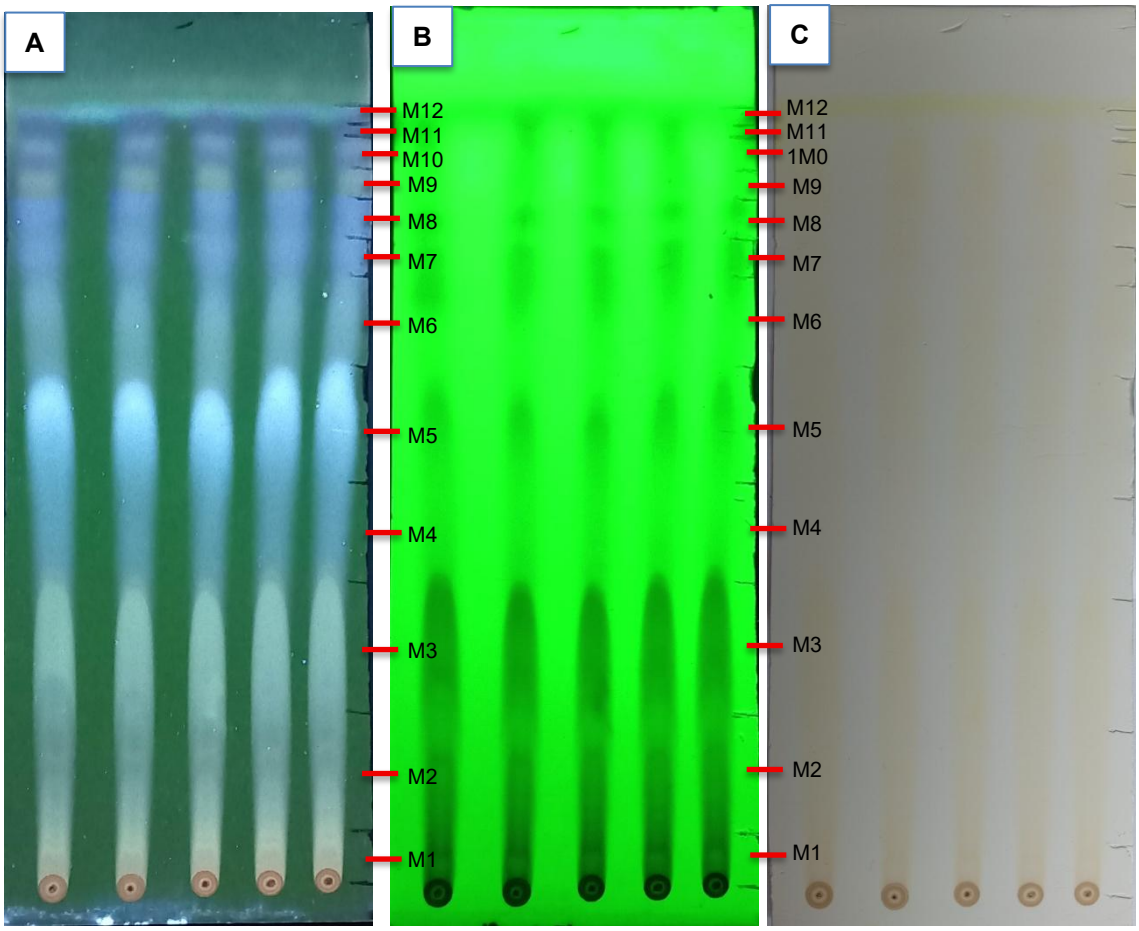


Figura 11. Resultados de cromatografía en capa fina (CCF) preparativa del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. **A.** Luz UV 254 nm. **B.** Luz UV 365 nm. **C.** Luz visible. **Fuente:** Propia.

Tabla 17. Rfs Cromatografía en capa fina preparativa del extracto de *Buddleja incana* Ruiz y Pav.

Analitos	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
Rf	0,030	0,128	0,273	0,410	0,538	0,661	0,738	0,784	0,825	0,863	0,893	0,913

V.6.Propuesta de estructuras químicas

Se realizó la desorción de los componentes aislados en la CCF a escala preparativa, los 12 analitos detectados fueron analizados mediante espectroscopia UV/Vis, en un rango de 200-400 nm y luego fueron comparados con los resultados publicados por Mabry T. et al. (67) proponiéndose las siguientes estructuras:

- **Fracción** MI: (M1= hasta M8); $\lambda_{máx}^{EtOH}$ **:** 287, 337 nm

Al realizar la lectura en el espectrofotómetro UV-Vis de la fracción MI en etanol se obtiene las siguientes longitudes de onda en nanómetros $\lambda_{máx}^{EtOH}$ 287, 337 nm (Figura 12) que de acuerdo con las tablas publicadas por Mabry et al. (67) corresponde a un esqueleto básico de flavona. Luego de haber realizado el análisis de los espectros UV/vis de la fracción MI se propone la estructura de la Figura 13: 5,7,4´-trihidroxi-6,8,3´-trimetoxiflavona (Figura 13).

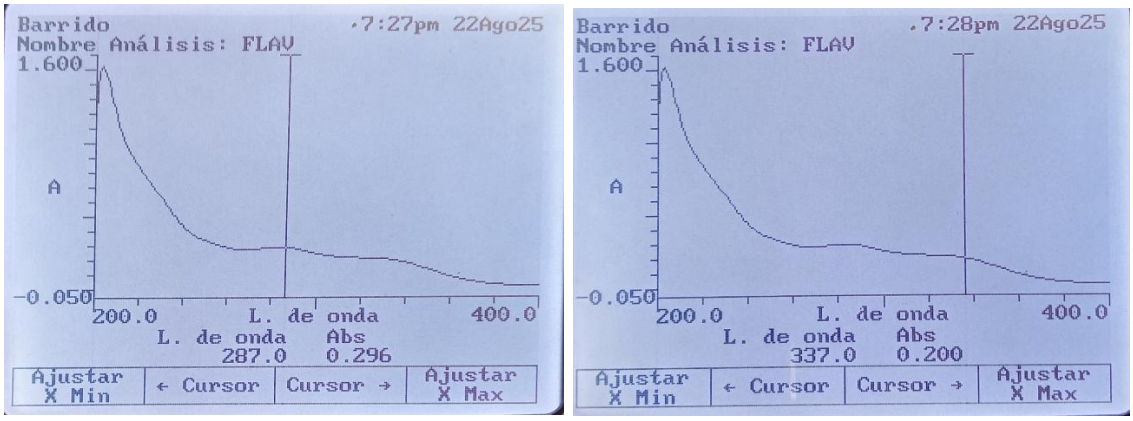


Figura 12. Lecturas espectrofotómetro UV/Vis Fracción MI

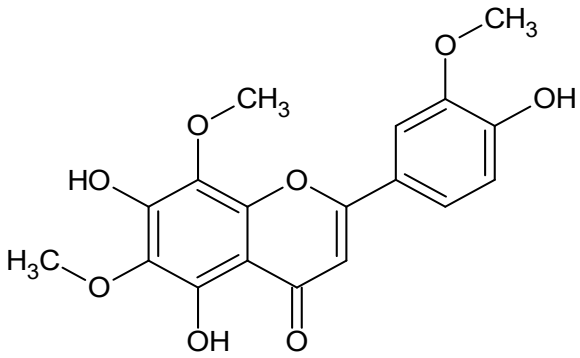


Figura 13. 5,7,4´-trihidroxi-6,8,3´-trimetoxiflavona.

- **Fracción** MII: (M9=M10); $\lambda_{máx}^{EtOH}$ **:** 281, 335 nm

Al realizar la lectura en el espectrofotómetro UV-Vis de la fracción MII en etanol se obtiene las siguientes longitudes de onda en nanómetros $\lambda_{máx}^{EtOH}$ 281,

335 nm (Figura 14) que de acuerdo con las tablas publicadas por Mabry et al. (67) corresponde a un esqueleto básico de flavona. Luego de haber realizado el análisis de los espectros UV/vis de la fracción MII se propone la estructura de la Figura 15: 5-hidroxi-6,7,8,3´,4´-pentametoxiflavona (Figura 15).

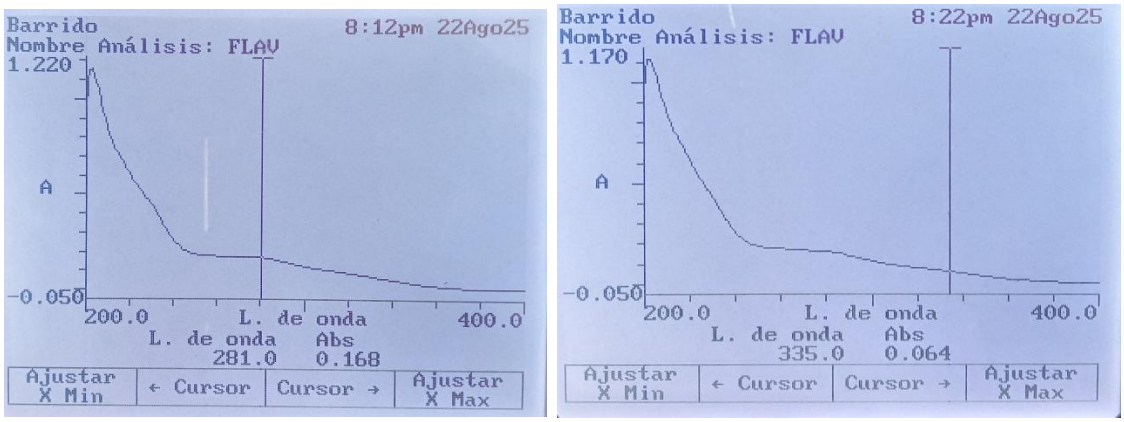


Figura 14. Lecturas espectrofotómetro UV/Vis Fracción MII

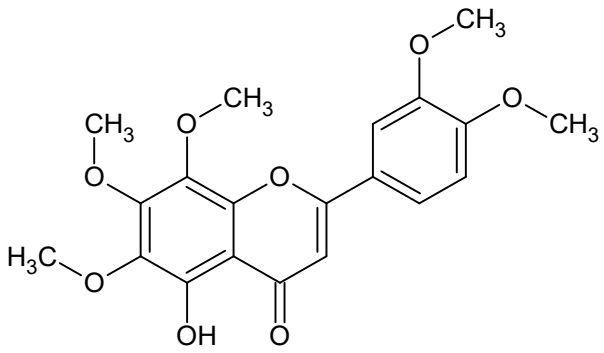


Figura 15. 5-hidroxi-6,7,8,3´,4´-pentametoxiflavona

- **Fracción MIII:** (M12); $\lambda_{máx}^{EtOH}$: 286, 340 nm

Al realizar la lectura en el espectrofotómetro UV-Vis de la fracción MIII en etanol se obtiene las siguientes longitudes de onda en nanómetros $\lambda_{máx}^{EtOH}$ 286, 340 nm (Figura 16) que de acuerdo a las tablas publicadas por Mabry et al. (67) corresponde a un esqueleto básico de flavona. Luego de haber realizado el análisis de los espectros UV/vis de la fracción MIII se propone la estructura de la Figura 17: 5,7,3`-trihidroxi-6,8,4´-trimetoxiflavona (Figura 17).

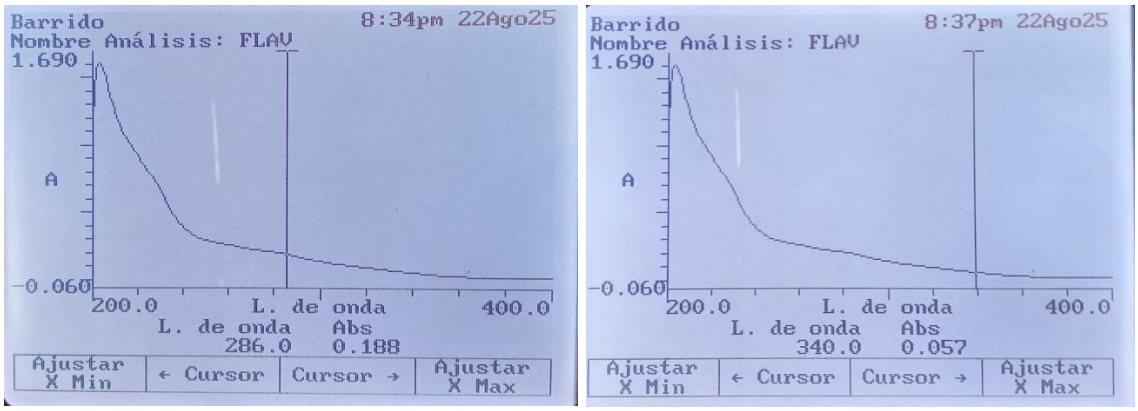


Figura 16. Lecturas espectrofotómetro UV/Vis Fracción MIII

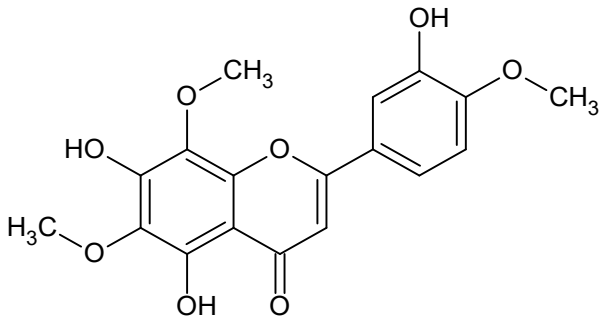


Figura 17. 5,7,3`-trihidroxi-6,8,4´-trimetoxiflavona

V.7. Determinación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* "quishuar" por el método de difusión en agar

Los resultados se presentan en las Tablas 18 y 19, así como en las Figuras 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 y 28.

Tabla 18. Valores promedio de los halos de inhibición del Extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* "quishuar" frente a bacterias gram+ y gram-

Microorganismos	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)*				
	Extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar"				
	50 mg/mL	100 mg/mL	150 mg/mL	Ciprofloxacino (Control +)	DMSO (Control -)
***Escherichia coli* ATCC 25922**	12,00 ± 0,00	13,00 ± 0,00	14,00 ± 0,00	40,5 ± 0,0	9,0 ± 0,0
Staphylococcus aureus ATCC 25923	12,00 ± 0,00	13,00 ± 0,00	14,00 ± 0,00	33,5 ± 0,0	9,0 ± 0,0
Bacillus subtilis ATCC 6633	12,67 ± 0,58	13,67 ± 0,58	15,00 ± 1,00	46,5 ± 0,0	9,0 ± 0,0
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**	11,67 ± 0,58	13,00 ± 0,00	14,00 ± 0,00	36,5 ± 0,0	9,0 ± 0,0

*Los resultados se expresan en Promedio ± Desviación estándar.

*El diámetro de los pocillos en agar miden 9,0 mm.

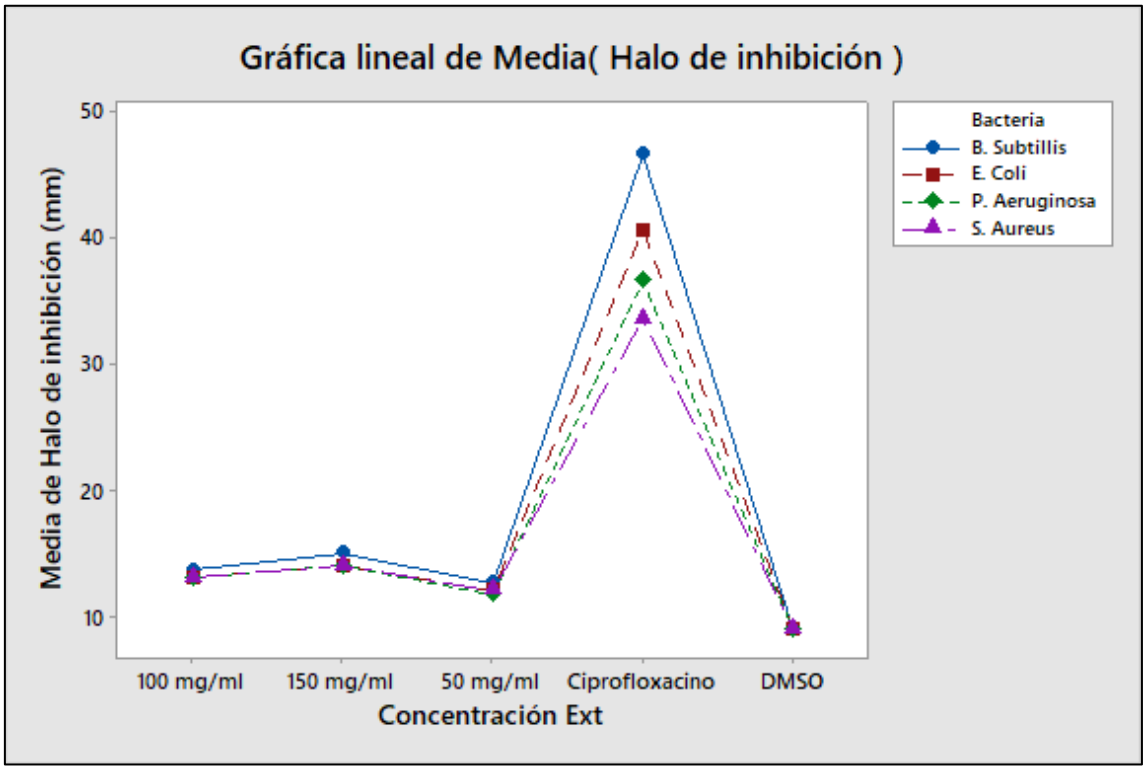


Figura 18. Gráfica de promedio de halos de inhibición del extracto y controles frente a bacterias gram + y gram -

En el análisis estadístico el ANOVA de dos vías mostró diferencias significativas en los halos de inhibición según la concentración del extracto y el tipo de bacteria, así como en su interacción ($p < 0.05$) (Figura 19). La prueba de Tukey confirmó estas diferencias, agrupando los tratamientos según su nivel de actividad relativa (Figura 20).

Modelo lineal general: Halo de inhibición vs. Bacteria; ... entración Ext

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Bacteria	Fijo	4	B. Subtillis; E. Coli; P. Aeruginosa; S. Aureus
Concentración Ext	Fijo	5	100 mg/ml; 150 mg/ml; 50 mg/ml; Ciprofloxacino; DMSO

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Bacteria	3	80.98	26.99	269.94	0.000
Concentración Ext	4	7247.77	1811.94	18119.42	0.000
Bacteria*Concentración Ext	12	208.10	17.34	173.42	0.000
Error	40	4.00	0.10		
Total	59	7540.85			

Figura 19. Análisis de varianza (ANOVA Two way) Halos de inhibición del extracto frente a bacterias gram+ y gram-

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Bacteria*Concentración Ext	N	Media	Agrupación
B. Subtillis Ciprofloxacino	3	46.5000	A
E. Coli Ciprofloxacino	3	40.5000	B
P. Aeruginosa Ciprofloxacino	3	36.5000	C
S. Aureus Ciprofloxacino	3	33.5000	D
B. Subtillis 150 mg/ml	3	15.0000	E
E. Coli 150 mg/ml	3	14.0000	F
P. Aeruginosa 150 mg/ml	3	14.0000	F
S. Aureus 150 mg/ml	3	14.0000	F
B. Subtillis 100 mg/ml	3	13.6667	F G
E. Coli 100 mg/ml	3	13.0000	G H
P. Aeruginosa 100 mg/ml	3	13.0000	G H
S. Aureus 100 mg/ml	3	13.0000	G H
B. Subtillis 50 mg/ml	3	12.6667	H I
S. Aureus 50 mg/ml	3	12.0000	I J
E. Coli 50 mg/ml	3	12.0000	I J
P. Aeruginosa 50 mg/ml	3	11.6667	J
S. Aureus DMSO	3	9.0000	K
B. Subtillis DMSO	3	9.0000	K
P. Aeruginosa DMSO	3	9.0000	K
E. Coli DMSO	3	9.0000	K

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 20. Prueba de comparación múltiple de Tukey de los halos de inhibición del extracto frente a bacterias gram+ y gram-

• **Bacterias gramnegativas:** *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

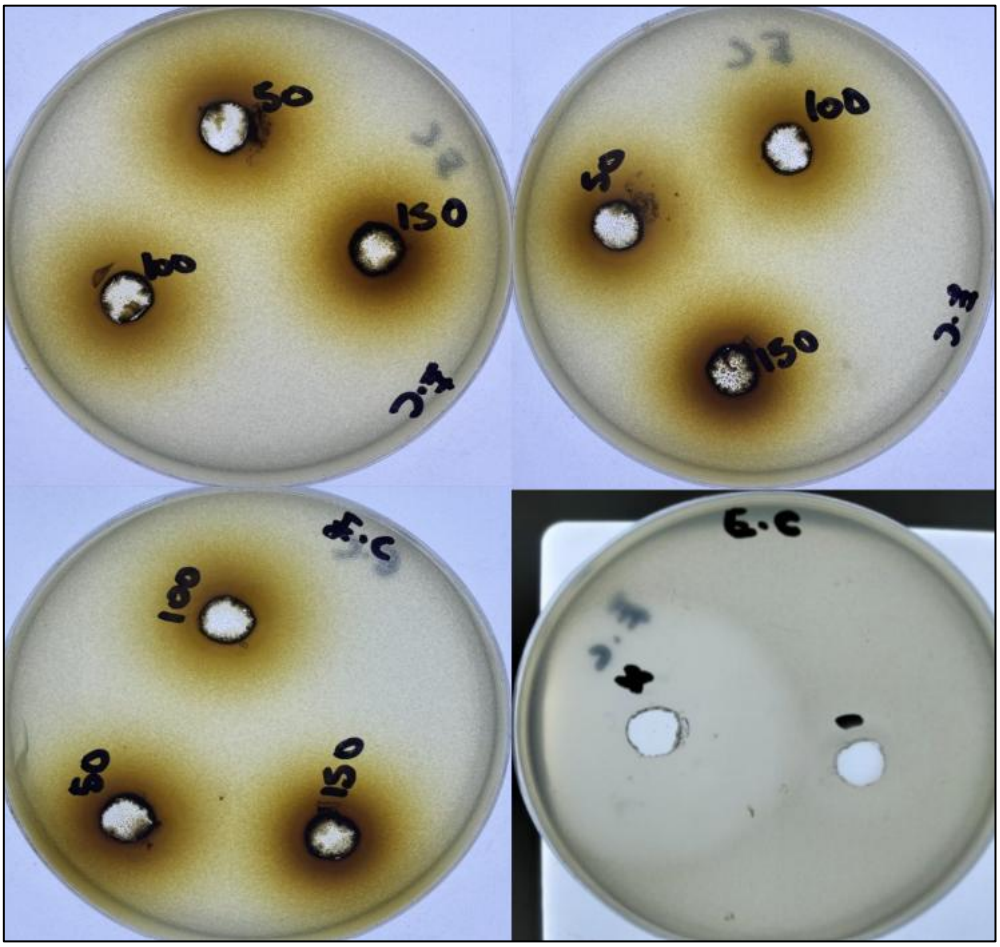


Figura 21. Halos de inhibición en *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y diluyente utilizado Dimetilsulfóxido (-).

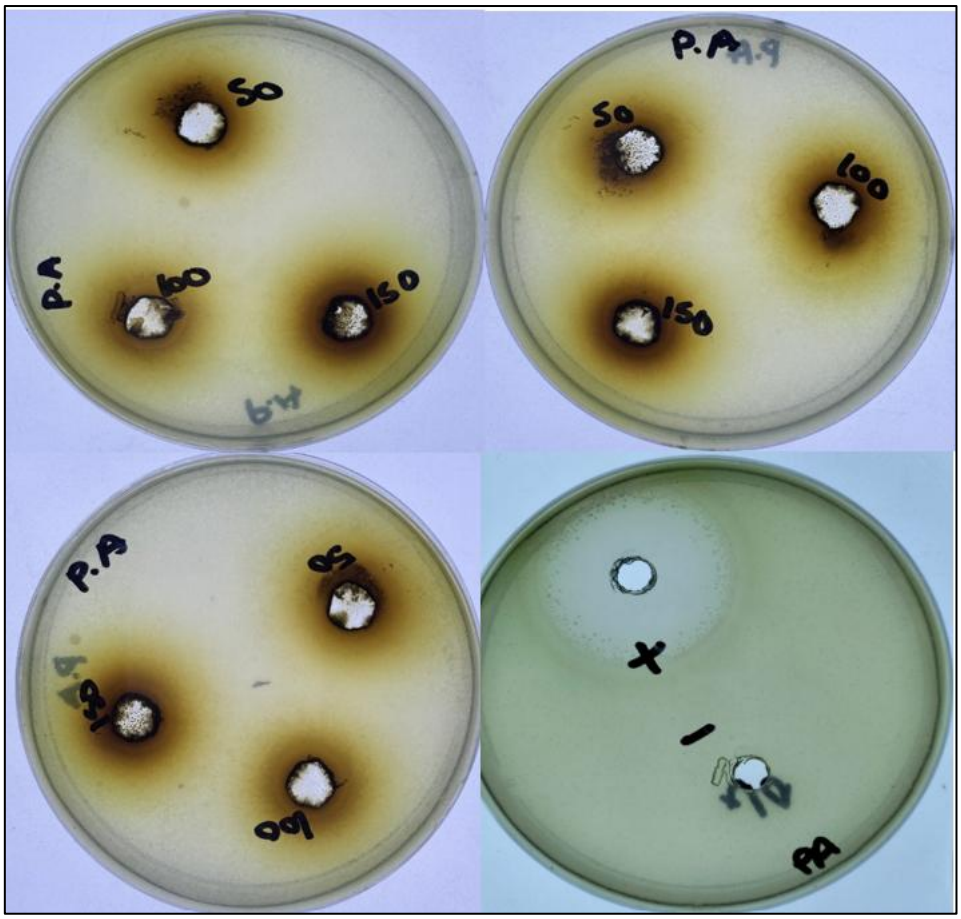


Figura 22. Halos de inhibición en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 frente a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y diluyente utilizado Dimetilsulfóxido (-).

• **Bacterias grampositivas:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 *y Bacillus subtilis* ATCC 6633

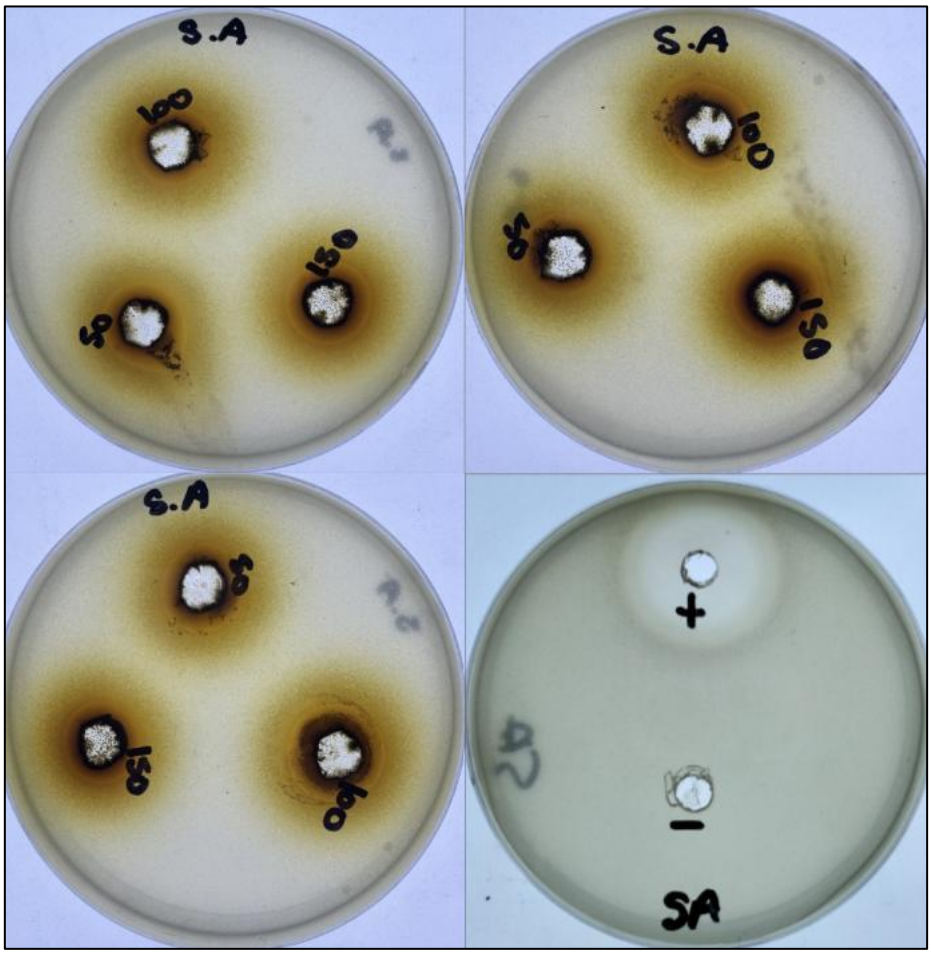


Figura 23. Halos de inhibición en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y diluyente utilizado Dimetilsulfóxido (-).

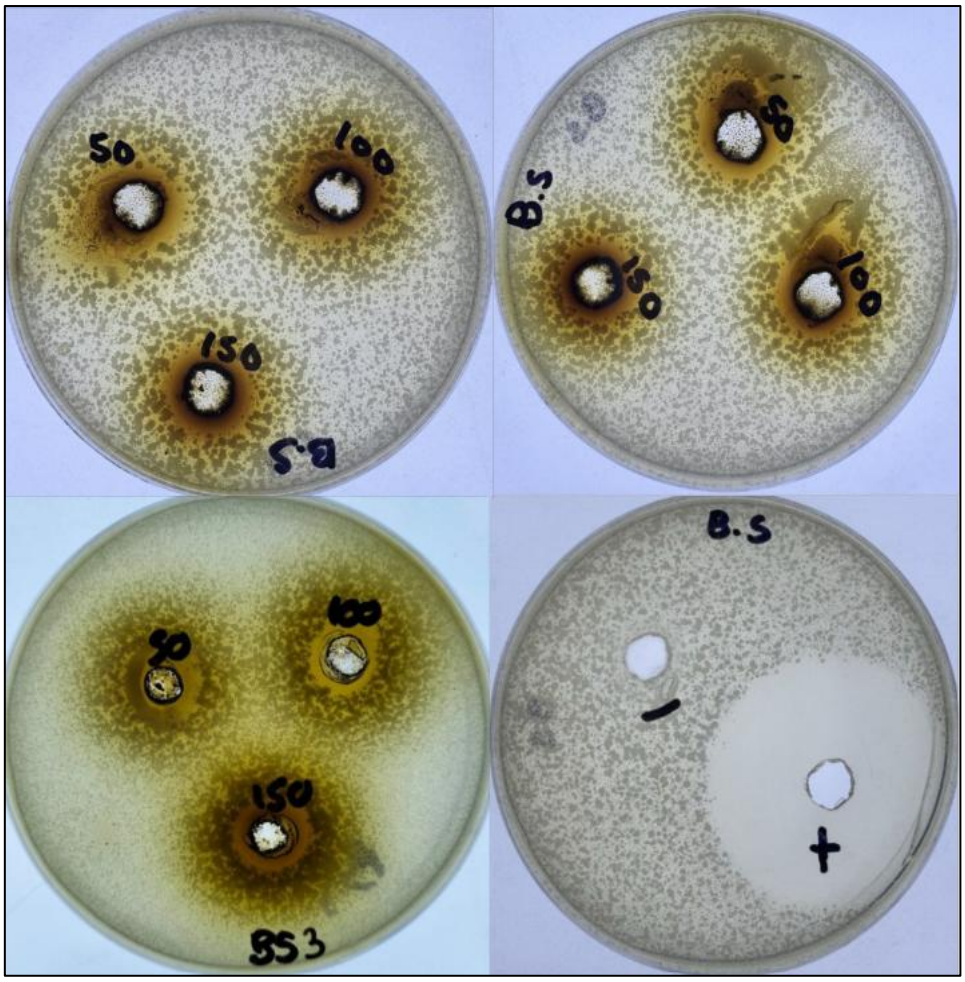


Figura 24. Halos de inhibición en *Bacillus subtilis* ATCC 6633 frente a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y diluyente utilizado Dimetilsulfóxido (-).

Tabla 19. Valores promedio de los halos de inhibición del Extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* "quishuar" frente a levadura *C. albicans*

Microorganismo	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)*				
	Extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar"				
	50 mg/mL	100 mg/mL	150 mg/mL	Fluconazol (Control +)	DMSO (Control -)
Levadura *Candida albicans* ATCC 10231	12,67 ± 0,58	13,33 ± 1,16	14,33 ± 1,53	30,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0

*Los resultados se expresan en Promedio ± Desviación estándar.

*El diámetro de los pocillos en agar miden 9,0 mm.

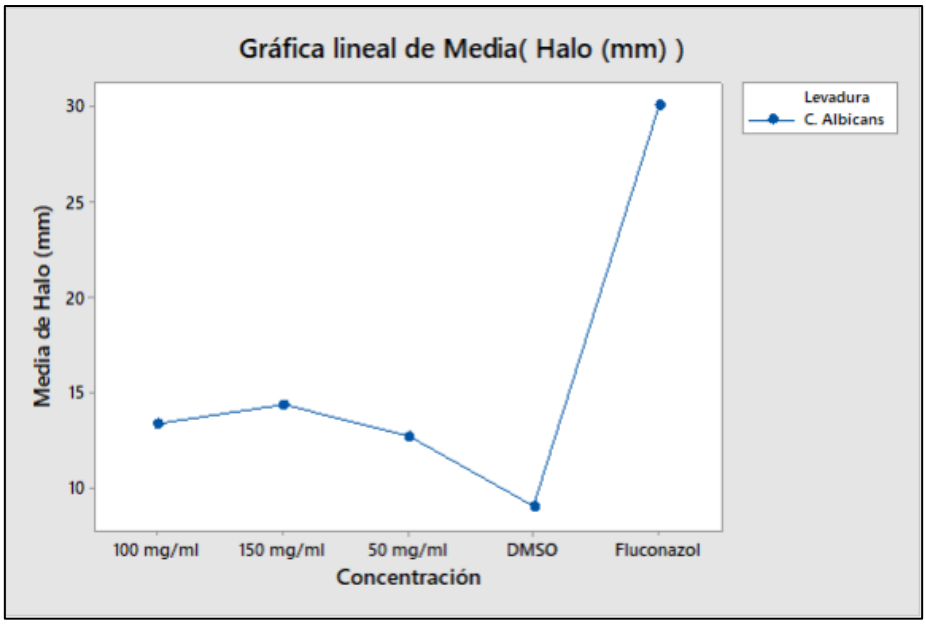


Figura 25. Gráfica de promedio de halos de inhibición del extracto y controles frente a levadura *C. Albicans.*

En el análisis estadístico el ANOVA de una vía mostró diferencias significativas en los halos de inhibición y la concentración del extracto ($p < 0.05$) (Figura 26). La prueba de Tukey confirmó estas diferencias, agrupando los tratamientos según su nivel de actividad relativa (Figura 27).

ANOVA de un solo factor: Halo (mm) vs. Concentración

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	α = 0.05

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Concentración	5	100 mg/ml; 150 mg/ml; 50 mg/ml; DMSO; Fluconazol

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración	4	797.733	199.433	249.29	0.000
Error	10	8.000	0.800		
Total	14	805.733			

Figura 26. Análisis de varianza (ANOVA One way) Halos de inhibición del extracto frente a levadura *C. Albicans*

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Concentración	N	Media	Agrupación		
Fluconazol	3	30.00	A		
150 mg/ml	3	14.333		B	
100 mg/ml	3	13.333		B	
50 mg/ml	3	12.667		B	
DMSO	3	9.000			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 27. Prueba de comparación multiple de Tukey de los halos de inhibición del extracto frente a levadura *C. Albicans*

• **Levadura:** *Candida albicans* ATCC 10231

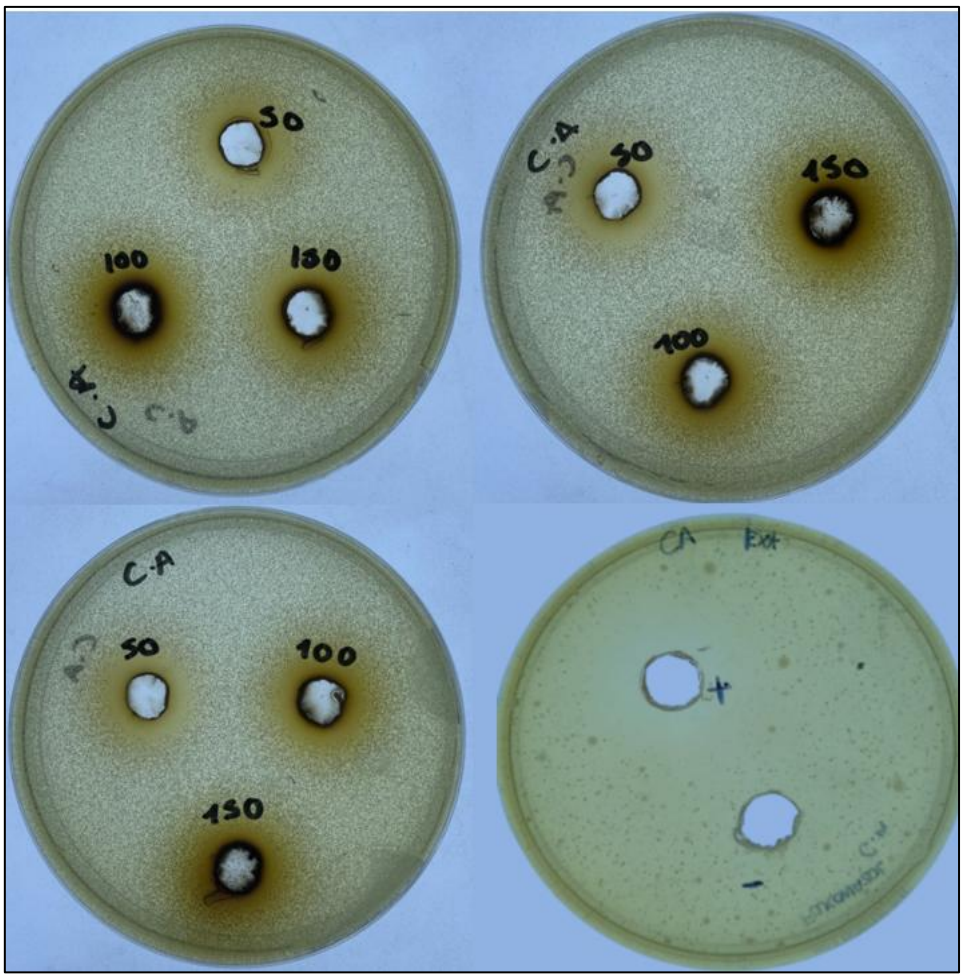


Figura 28. Halos de inhibición en *Candida albicans* ATCC 10231 frente a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". Control positivo: Fluconazol 0,02 mg/mL (+) y diluyente utilizado Dimetilsulfóxido (-).

V.8. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* "quishuar" por el método de Microdilución colorimétrico en microplaca.

La evaluación antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav la cual se realizó por triplicado, evidenció la siguiente actividad antimicrobiana y en las siguientes concentraciones (Tablas 20,21 y figuras 29, 30, 31, 32 y 33).

Tabla 20. Valores de Concentración mínima inhibitoria *in vitro* del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. en bacterias

N°	Soluciones	Actividad antimicrobiana – Concentración mínima inhibitoria (CMI) (µg/mL)			
		***Sa*(*)**	***Bs*(*)**	***Ec*(*)**	***Pa*(*)**
1	Extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav.	500 ± 0,0	2000 ± 0,0	A.N.D	A.N.D
2	Ciprofloxacino Control positivo	0,25 ± 0,0	0,25 ± 0,0	0,25 ± 0,0	0,25 ± 0,0
3	Caldo Mueller Hinton (CMH) con resazurina 20 mg/mL Control negativo	A.N.D	A.N.D	A.N.D	A.N.D

(*) Sa (*Staphylococcus aureus*), Bs (*Bacillus subtilis*), Ec (*Escherichia coli*) y Pa (*Pseudomonas aeruginosa*)

* Los resultados se expresan en Promedio ± Desviación estándar.

A.N.D: Actividad no detectada

Fuente: Elaboración propia

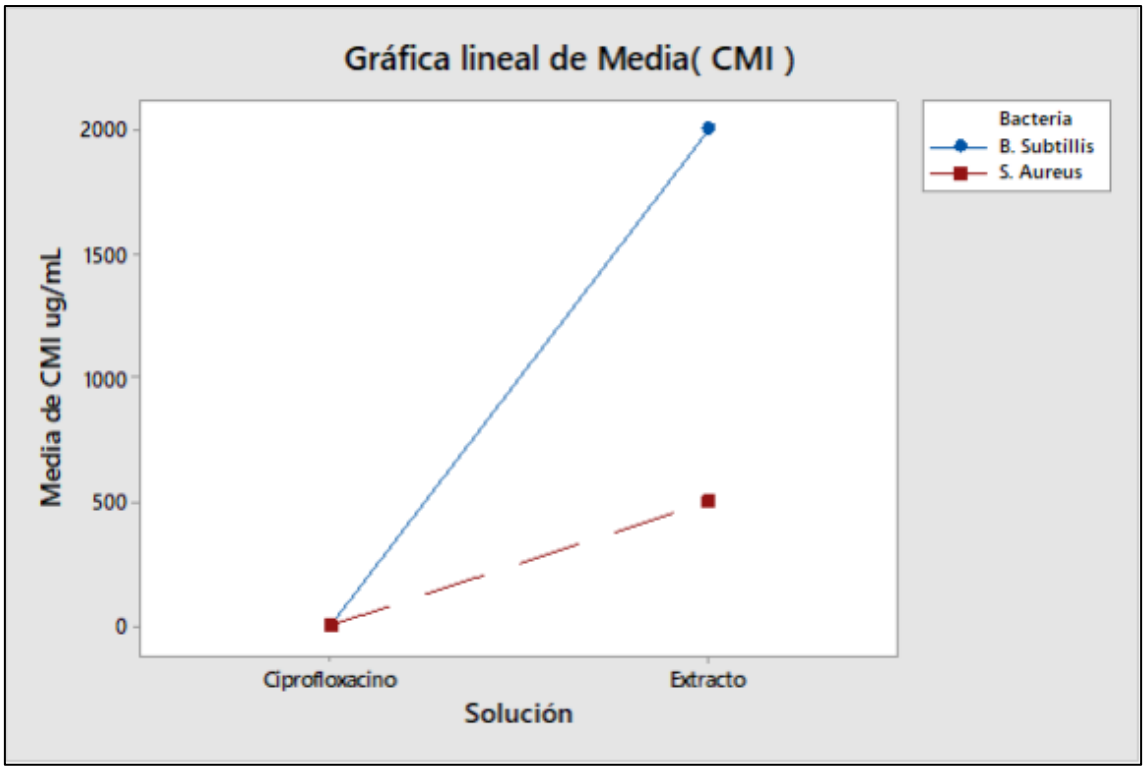


Figura 29. Gráfica de promedio de CMI del extracto y controles frente a bacterias Gram +

• **Bacterias grampositivas:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 *y Bacillus subtilis* ATCC 6633

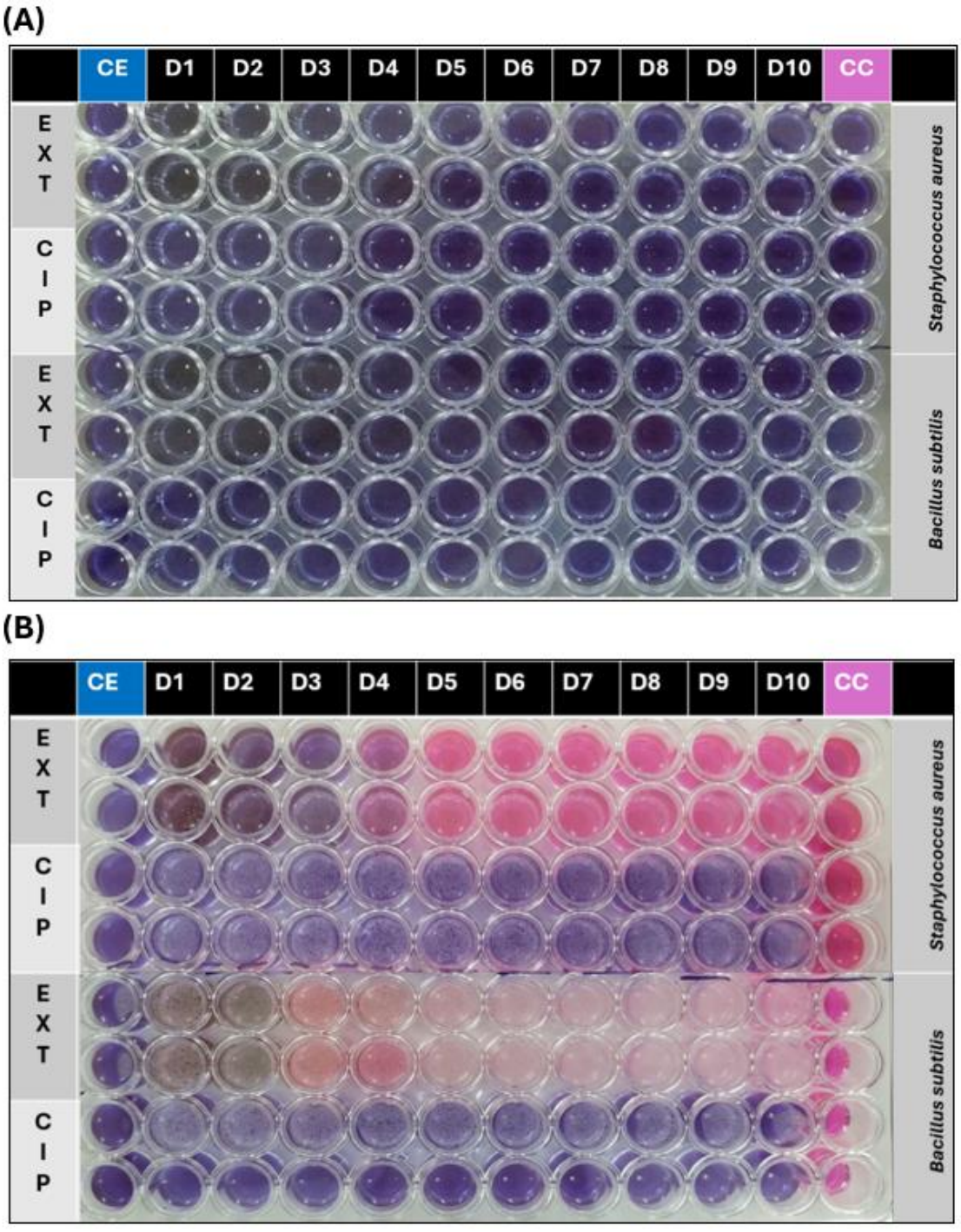


Figura 30. Ensayo *in vitro* de CMI del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. (A) Microplaca de bacterias grampositivas antes de la incubación por 24 h a 37 °C. (B) Resultados del ensayo *in vitro* de CMI después de la incubación

- **Bacterias gramnegativas:** *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

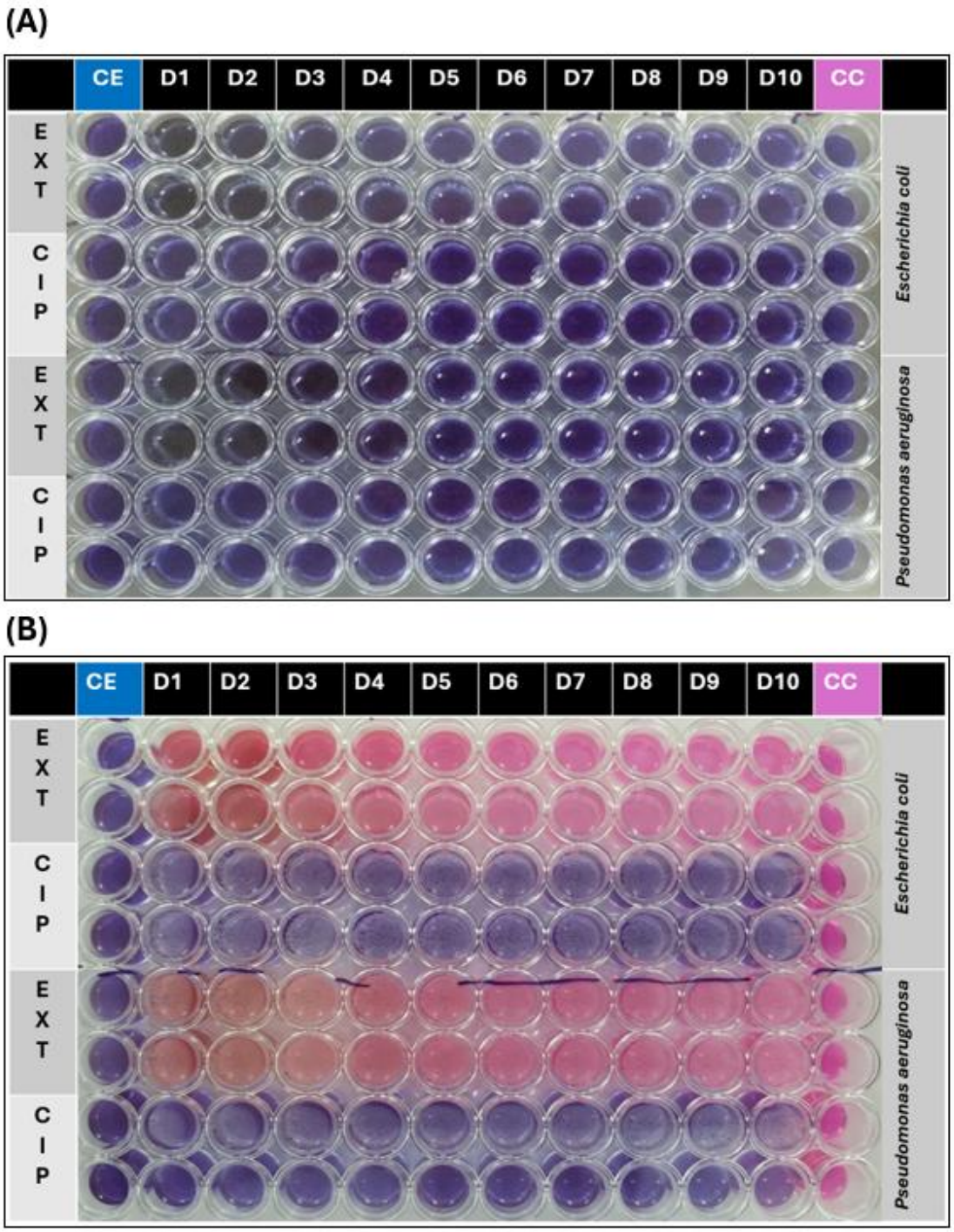


Figura 31. Ensayo *in vitro* de CMI del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav frente a *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (A) Microplaca de bacterias gramnegativas antes de la incubación por 24 h a 37 °C. (B) Resultados del ensayo *in vitro* de CMI después de la incubación

Tabla 21. Valores de Concentración mínima inhibitoria *in vitro* del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. en levadura *C.albicans.*

N°	Soluciones	Actividad antimicrobiana – Concentración mínima inhibitoria (CMI) (µg/mL)
		Ca (*)
1	Extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav.	500,0 ± 0,0
2	Fluconazol Control positivo	2,0 ± 0,0
3	Caldo RPMI 1640 y con resazurina (20 mg/mL) Control negativo	0,0

(*) Ca (*Candida albicans*)

Fuente: Elaboración propia

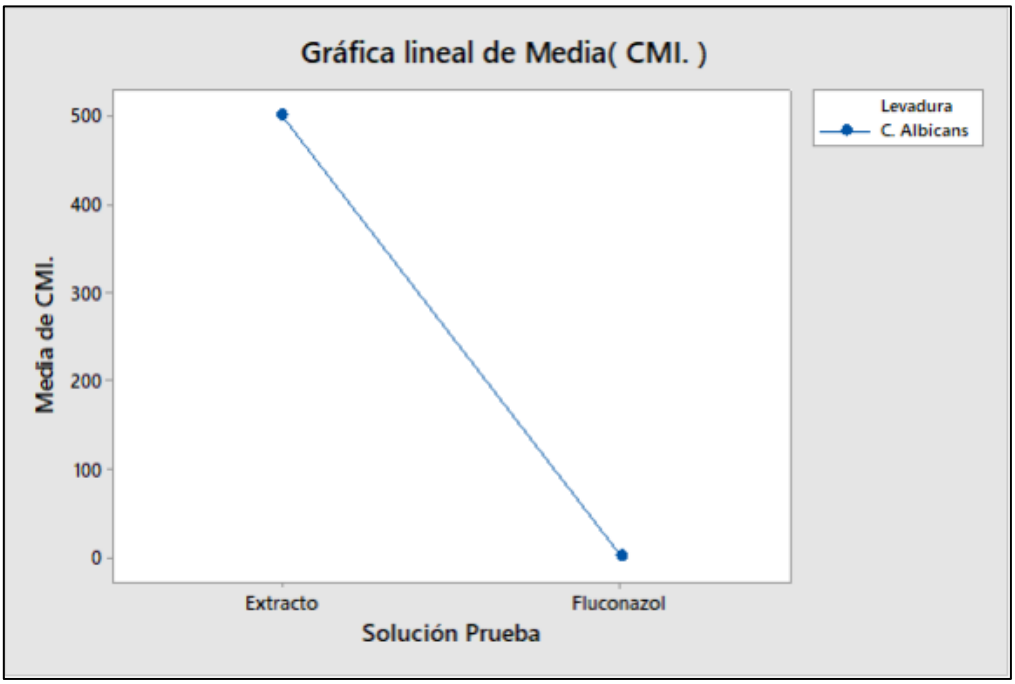


Figura 32. Gráfica de promedio de CMI del extracto y control frente a levadura *C. Albicans*

• **Levadura:** *Candida albicans* ATCC 10231

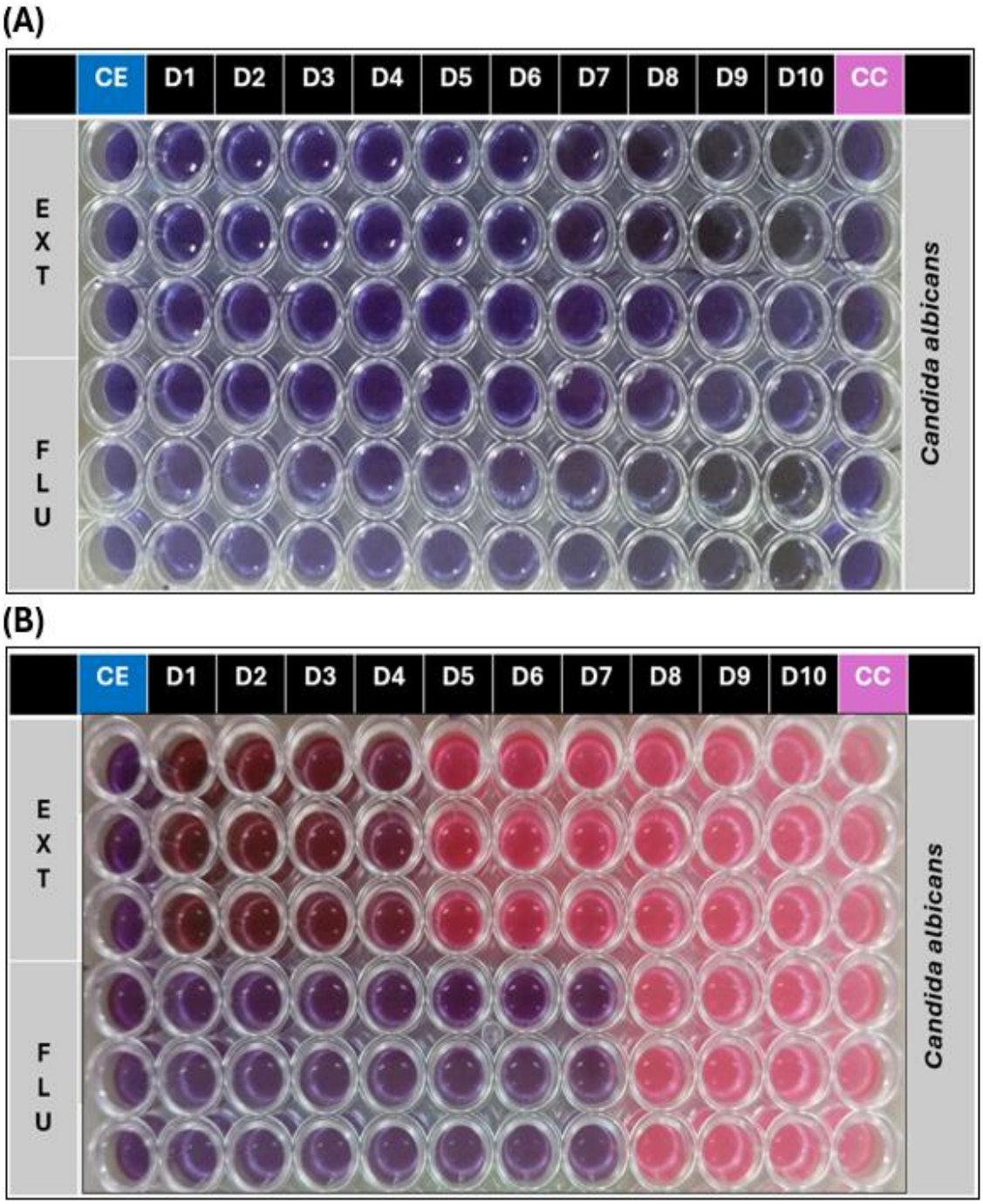


Figura 33. Ensayo *in vitro* de CMI del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav frente a *Candida albicans* (A) Microplaca de levadura antes de la incubación por 24 h a 37 °C. (B) Resultados del ensayo *in vitro* de CMI después de la incubación

V.9.Ensayo Farmacotécnico

V.9.1. **Especificaciones del producto terminado**

En la Tabla 22 se presentan las propiedades fisicoquímicas del gel formulado con el extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana*. Asimismo, en la Figura 26 se muestran las presentaciones del gel al 1,0 %, 3,0 % y 5,0 %.

Tabla 22. Propiedades fisicoquímicas del gel del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav.

Parámetros	**Gel 1,0% extracto**	**Gel 3,0% extracto**	**Gel 5,0% extracto**
Aspecto	Gel homogéneo, untuoso, sin presencia de grumos	Gel homogéneo, untuoso, sin presencia de grumos	Gel homogéneo, untuoso, sin presencia de grumos
Color	Marrón oscuro	Marrón oscuro a negro	Marrón oscuro a negro
Olor	Sui géneris	Sui géneris	Sui géneris
Presencia de grumos	Negativo	Negativo	Negativo
Untuosidad al tacto	Penetrante	Penetrante	Penetrante
pH	5,76	5,74	5,77
Extensibilidad	32.17 cm²	32.86 cm²	33.27 cm²



Figura 34. Gel del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav a concentraciones del 1,0%, 3,0% y 5,0%

V.9.2. **Ensayo de estabilidad**

V.9.2.1. Prueba en centrifugación

Los resultados de la prueba de centrifugación del gel base y del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav a concentraciones del 1,0%, 3,0% y 5,0%, se muestran en la siguiente tabla (Tabla 23).

Tabla 23. Resultados de la prueba de centrifugación

Formulación	Descripción
Gel base	Gel homogéneo sin evidenciar separación de fases, sinéresis ni exudación. No se observaron cambios en su color inicial transparente, consistencia ni formación de grumos o burbujas adicionales.
Gel del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav al 1,0%	Gel homogéneo sin evidenciar separación de fases, sinéresis ni exudación. No se observaron cambios en su color inicial marrón oscuro, consistencia ni formación de grumos o burbujas adicionales.
Gel del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav al 3,0%	Gel homogéneo sin evidenciar separación de fases, sinéresis ni exudación. No se observaron cambios en su color inicial marrón oscuro, consistencia ni formación de grumos o burbujas adicionales.
Gel del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav al 5,0%	Gel homogéneo sin evidenciar separación de fases, sinéresis ni exudación. No se observaron cambios en su color inicial marrón oscuro, consistencia ni formación de grumos o burbujas adicionales.

V.9.2.2. Estabilidad preliminar

Los resultados de la prueba de estabilidad preliminar del gel base y del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav a concentraciones del 1,0%, 3,0% y 5,0%, fue realizada en 3 condiciones (T° 40°C, T° de estrés 4°C y 40°C, y T° de refrigeración 4°C) durante 30 días, ello permitió establecer la robustez de la formulación. Los resultados se muestran en la siguiente tabla (Tabla 24).

Tabla 24. Resultados de la prueba de estabilidad preliminar

Formulación	Condición	Descripción
Gel base	**4°C**	Gel incoloro estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases.
	4°C / 40°C	Gel incoloro estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases.
	40°C	Gel transparente estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases.
Gel 1,0% extracto	**4°C**	Gel marrón oscuro estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases.
	4°C / 40°C	Gel marrón oscuro estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases, sin embargo, presenta una consistencia menos espesa, evaluada visualmente y al tacto.
	40°C	Gel marrón oscuro estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases, sin embargo, presenta una consistencia menos espesa, evaluada visualmente y al tacto.
Gel 3,0% extracto	**4°C**	Gel marrón oscuro estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases.
	4°C / 40°C	Gel transparente estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases, sin embargo, presenta una consistencia menos espesa, evaluada visualmente y al tacto.
	40°C	Gel marrón oscuro estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases, sin embargo, presenta una consistencia menos espesa, evaluada visualmente y al tacto.
Gel 5,0% extracto	**4°C**	Gel marrón oscuro estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases.
	4°C / 40°C	Gel transparente estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases, sin embargo, presenta una consistencia menos espesa, evaluada visualmente y al tacto.
	40°C	Gel marrón oscuro estable, homogéneo y sin cambios organolépticos ni separación de fases, sin embargo, presenta una consistencia menos espesa, evaluada visualmente y al tacto.

V.9.3. **Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* del gel**

Los resultados se muestran en las Tablas 25 y 26, y las figuras 35,36,37,38,39,40,41, 42, 43, 44 y 45.

Tabla 25. Valores promedio de los halos de inhibición del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar" frente a bacterias gram+ y gram-

	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)*				
	Gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar"				
Microorganismos	**1,0%**	**3,0%**	**5,0%**	**Ciprofloxacino (Control +)**	**Gel base (Control -)**
***Escherichia coli* ATCC 25922**	16,67 ± 0,58	17,50 ± 0,50	19,0 ± 0,00	50,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0
Staphylococcus aureus* *ATCC 25923	18,0 ± 0,0	20,0 ± 0,0	21,33 ± 0,33	40,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0
Bacillus subtilis* *ATCC 6633	16,00 ± 0,00	17,67 ± 0,58	18,50 ± 0,87	47,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**	16,67 ± 0,58	17,67 ± 0,58	19,00 ± 0,00	37,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0

*Los resultados se expresan en Promedio ± Desviación estándar.

*El diámetro de los pocillos en agar miden 9,0 mm.

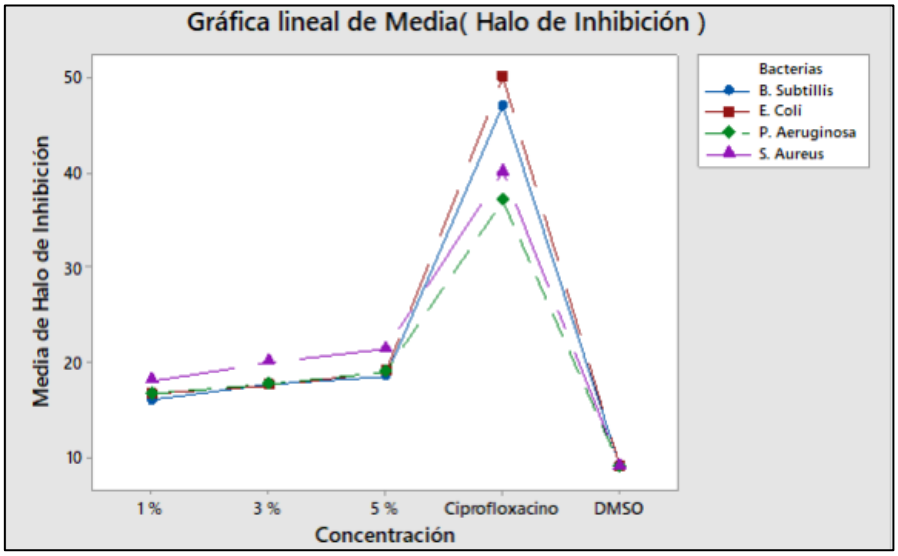


Figura 35. Gráfica de promedio de halos de inhibición del gel del extracto y controles frente a bacterias gram + y gram –

En el análisis estadístico el ANOVA de dos vías mostró diferencias significativas en los halos de inhibición y la concentración del gel del extracto ($p < 0.05$) (Figura 36). La prueba de Tukey confirmó estas diferencias, agrupando los tratamientos según su nivel de actividad relativa (Figura 37).

Modelo lineal general: Halo de Inhibición vs. Bacterias; Concentración

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Bacterias	Fijo	4	B. Subtillis; E. Coli; P. Aeruginosa; S. Aureus
Concentración	Fijo	5	1 %; 3 %; 5 %; Ciprofloxacino; DMSO

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Bacterias	3	53.17	17.72	132.92	0.000
Concentración	4	8123.78	2030.94	15232.08	0.000
Bacterias*Concentración	12	307.63	25.64	192.27	0.000
Error	40	5.33	0.13		
Total	59	8489.90			

Figura 36. Análisis de varianza (ANOVA Two way) Halos de inhibición del gel del extracto frente a bacterias gram + y gram –

Comparaciones por parejas de Tukey: Bacterias*Concentración

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Bacterias*Concentración	N	Media	Agrupación
E. Coli Ciprofloxacino	3	50.0000	A
B. Subtillis Ciprofloxacino	3	47.0000	B
S. Aureus Ciprofloxacino	3	40.0000	C
P. Aeruginosa Ciprofloxacino	3	37.0000	D
S. Aureus 5 %	3	21.3333	E
S. Aureus 3 %	3	20.0000	F
E. Coli 5 %	3	19.0000	F G
P. Aeruginosa 5 %	3	19.0000	F G
B. Subtillis 5 %	3	18.5000	G H
S. Aureus 1 %	3	18.0000	G H
P. Aeruginosa 3 %	3	17.6667	H I
B. Subtillis 3 %	3	17.6667	H I
E. Coli 3 %	3	17.5000	H I
P. Aeruginosa 1 %	3	16.6667	I J
E. Coli 1 %	3	16.6667	I J
B. Subtillis 1 %	3	16.0000	J
B. Subtillis DMSO	3	9.0000	K
P. Aeruginosa DMSO	3	9.0000	K
S. Aureus DMSO	3	9.0000	K
E. Coli DMSO	3	9.0000	K

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 37. Prueba de comparación multiple de Tukey de los halos de inhibición del gel del extracto frente a bacterias gram+ y gram-

• **Bacterias gramnegativas:** *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

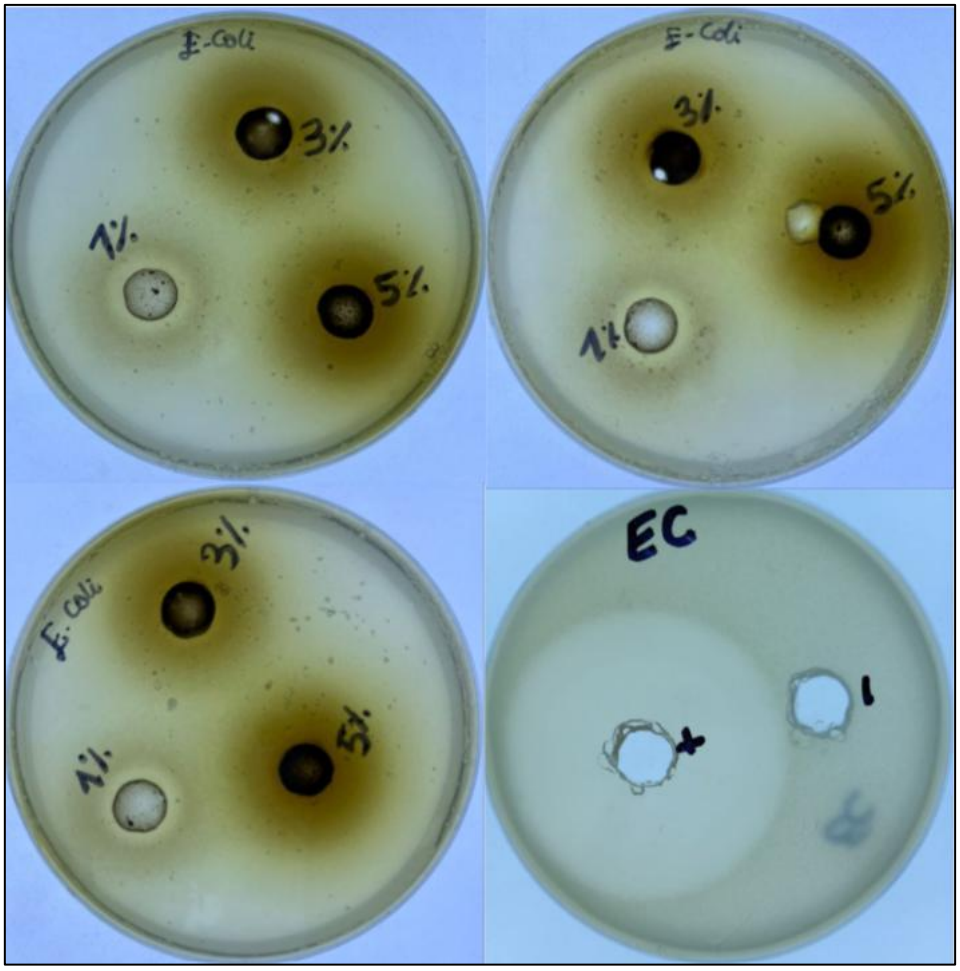


Figura 38. Halos de inhibición en *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a distintas concentraciones del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y **Control negativo:** Gel base (-).

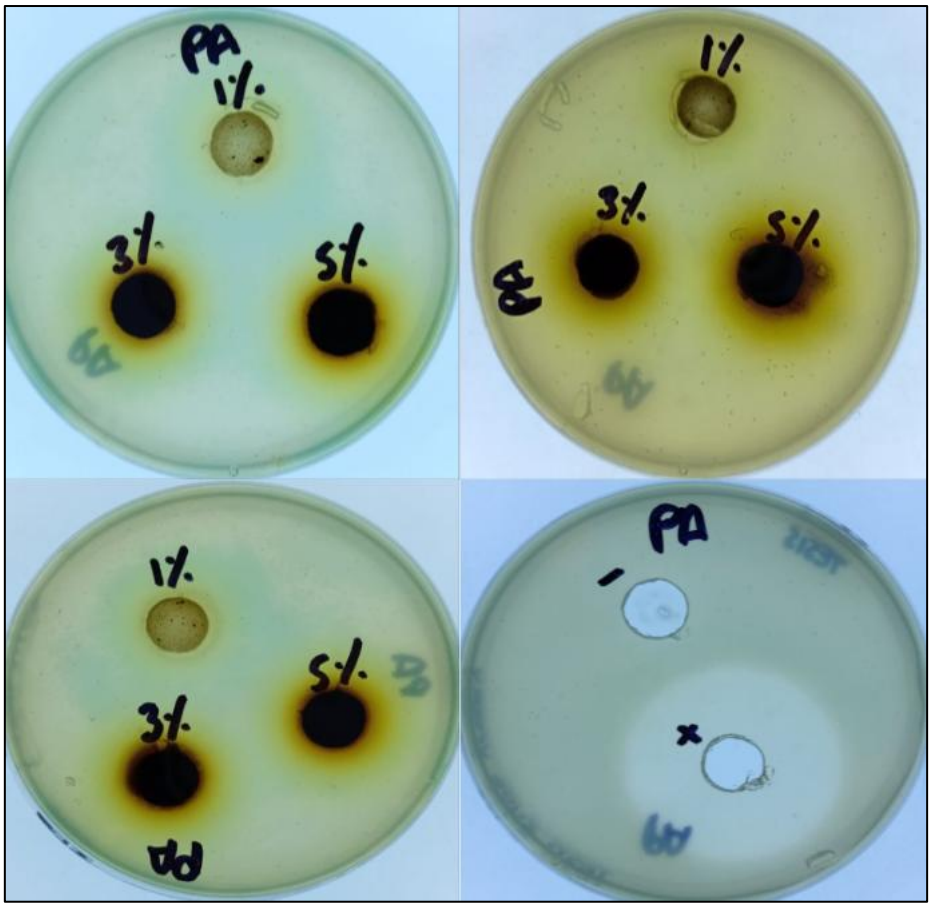


Figura 39. Halos de inhibición en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 frente a distintas concentraciones del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y **Control negativo:** Gel base (-).

• **Bacterias grampositivas:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 *y Bacillus subtilis* ATCC 6633

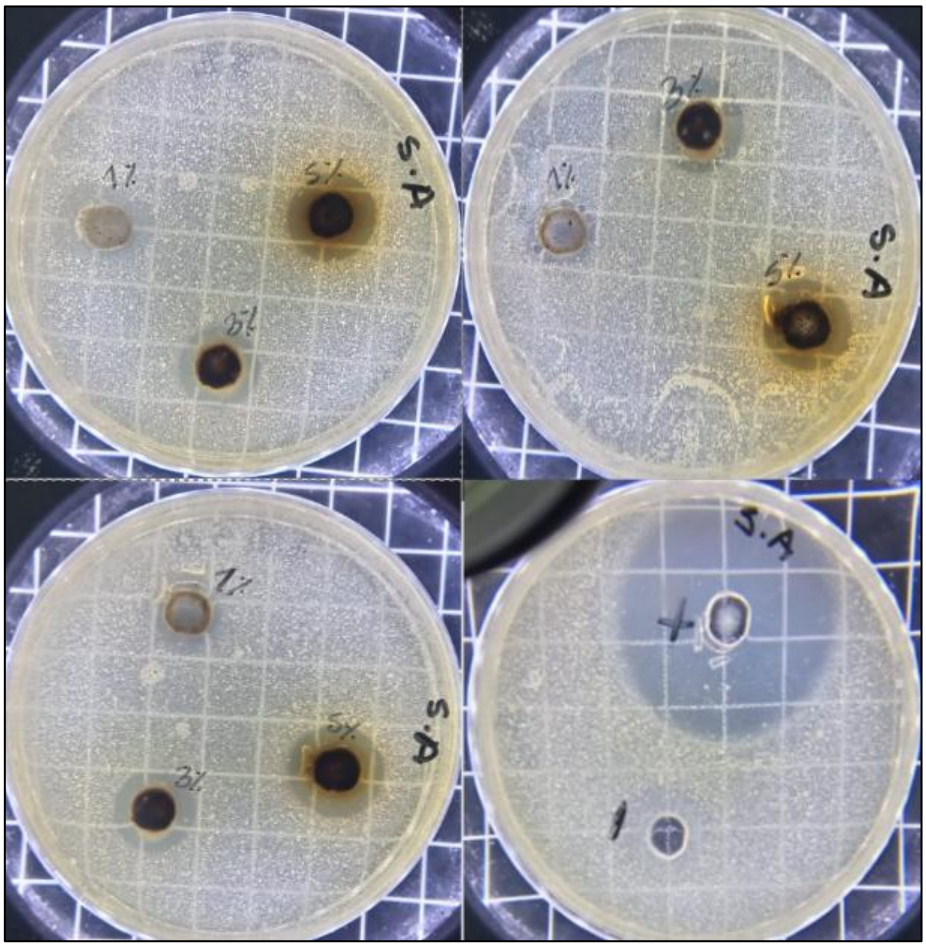


Figura 40. Halos de inhibición en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente a distintas concentraciones del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y **Control negativo:** Gel base (-).

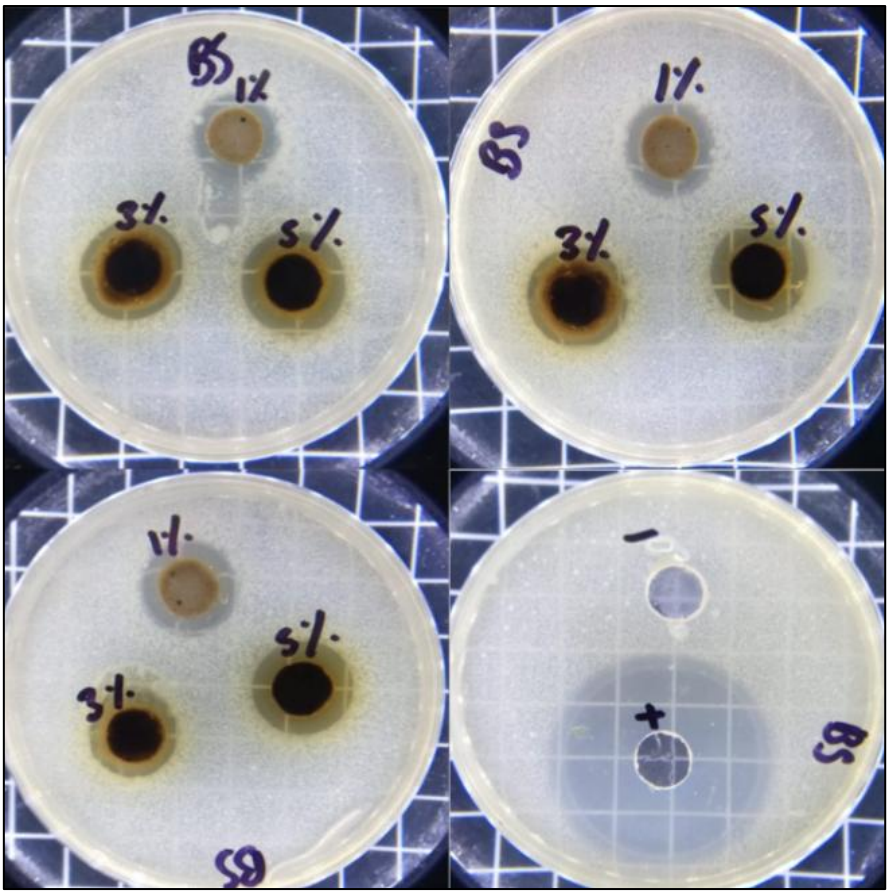


Figura 41. Halos de inhibición en *Bacillus subtilis* ATCC 6633 frente a distintas concentraciones del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". **Control positivo:** Ciprofloxacino 0,064 mg/mL (+) y **Control negativo:** Gel base (-).

Tabla 26. Valores promedio de los halos de inhibición del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar" frente a levadura *C.albicans.*

Microorganismo	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)*				
	Gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar"				
	1,0%	**3,0%**	**5,0%**	**Fluconazol (Control +)**	**Gel base (Control -)**
Levadura *Candida albicans* ATCC 10231	19,33 ± 0,58	20,67 ± 0,58	22,33 ± 0,58	31,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0

*Los resultados se expresan en Promedio ± Desviación estándar.
*El diámetro de los pocillos en agar miden 9,0 mm.

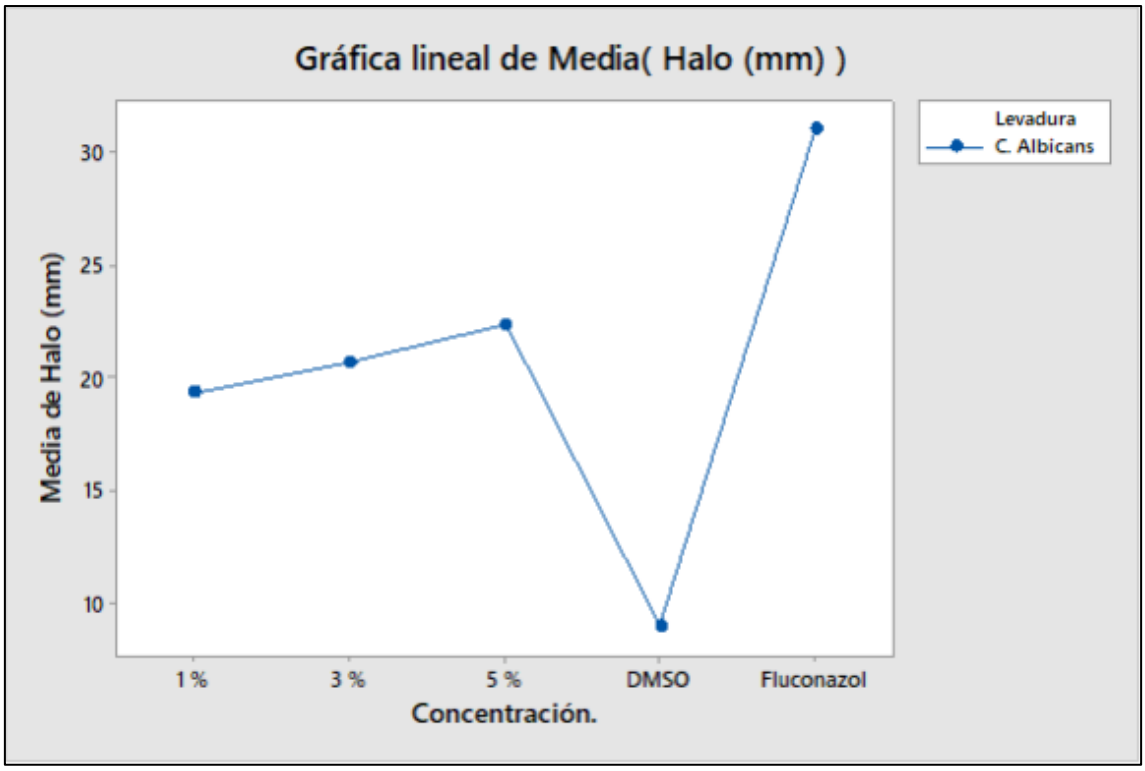


Figura 42. Gráfica de promedio de halos de inhibición del gel del extracto y controles frente a levadura *C. Albicans*

ANOVA de un solo factor: Halo (mm) vs. Concentración.

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	α = 0.05

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Concentración.	5	1 %; 3 %; 5 %; DMSO; Fluconazol

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración.	4	741.733	185.433	927.17	0.000
Error	10	2.000	0.200		
Total	14	743.733			

Figura 43. Análisis de varianza (ANOVA One way) Halos de inhibición del gel del extracto frente a levadura *C. Albicans*

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Concentración.	N	Media	Agrupación			
Fluconazol	3	31.00	A			
5 %	3	22.333		B		
3 %	3	20.667			C	
1 %	3	19.333				D
DMSO	3	9.000				E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 44. Prueba de comparación multiple de Tukey de los halos de inhibición del gel del extracto frente a levadura *C. Albicans*

• **Levadura:** *Candida albicans* ATCC 10231

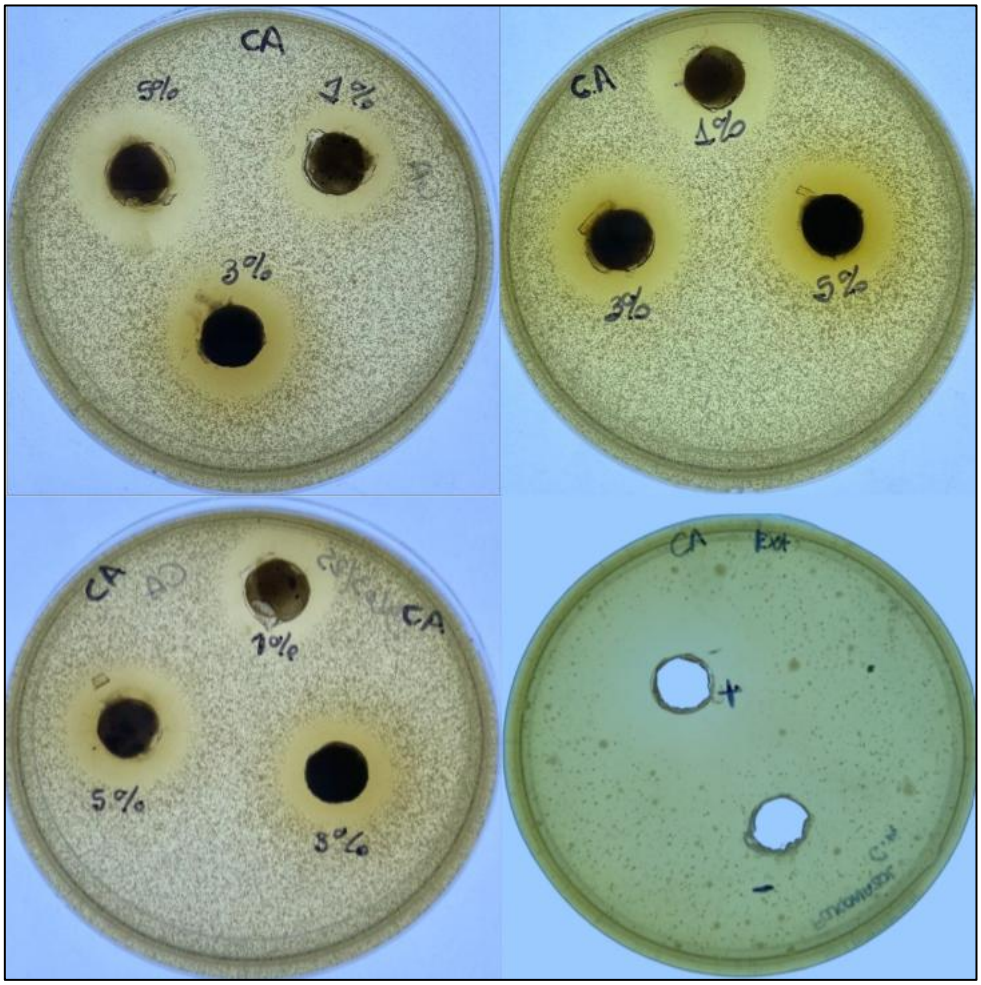


Figura 45. Halos de inhibición en *Candida albicans* ATCC 10231 frente a distintas concentraciones del gel del extracto hidroalcohólico *Buddleja incana* "quishuar". Control positivo: Fluconazol 0,02 mg/mL (+) y Control negativo: Gel base (-)

VI. DISCUSIÓN

El extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav presentó alta solubilidad en solventes polares como metanol y etanol, medianamente soluble en agua; así como una menor solubilidad en solventes apolares como butanol e insoluble en acetato de etilo, cloroformo y n-Hexano. En línea con estos resultados, el estudio de Miranda (30) evidenció que el extracto metanólico de las hojas de *Buddleja incana* es soluble en etanol, metanol y DMSO; sin embargo, no en solventes apolares.

Por otro lado, los resultados del tamizaje fitoquímico evidenciaron presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, carbohidratos, sesquiterpenlactonas, azúcares reductores, nafquinonas, antraquinonas y antronas, triterpenoides y esteroides. De manera similar, el tamizaje fitoquímico realizado por Miranda (30) evidenció que el extracto de las hojas de *Buddleja incana* presenta polifenoles, taninos, flavonoides y esteroides. Asimismo, en el estudio de Pérez (84) se evidencia que el extracto de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" tiene presencia de polifenoles, taninos, flavonoides y esteroides. Miranda (30) y Pérez (84) reportan también la presencia de y glicósidos cardiacos, saponinas y leucoantocianinas.

Respecto a la cromatografía en capa fina (CCF) con reveladores cromogénicos del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav, se evidenciaron 12 analitos, de los cuales, el primero, segundo y tercero exhibieron presencia de compuestos fenólicos bajo el revelador de $FeCl_3$ ya que se observaron coloraciones marrones a luz visible, este coincide con lo reportado Mabinya (85) que detectó la presencia de ácido felúrico (un compuesto fenólico) utilizando $FeCl_3$ como revelador cromógenico en CCF. Con respecto al revelador Baljet, se evidenció la presencia de sesquiterpenlactonas en el analito uno, dos, tres y doce, ya que se observa coloración naranja oscura a luz visible. Esto concuerda con lo evidenciado por Juárez et al. (86), en el cuál evidencia el uso del revelador Baljet para la detección de sesquiterpenlactonas en cromatografía en capa fina (CCF). Al utilizar el revelador H_2SO_4 al 50% se evidencia presencia de manchas oscuras en los metabolitos uno, siete, diez, once y doce; según lo indicado por Hostettmann (87), H_2SO_4 al 50% se utiliza como revelador de saponinas triterpénicas en CCF. El revelador Dragendorff evidenció la presencia

de alcaloides en los analitos uno, dos, tres, cuatro, seis y doce; al respecto, Rios (88) indica que el reactivo de Dragendorff forma coloración naranja oscura positiva para presencia de alcaloides. La cromatografía en Capa Fina con reveladores cromogénicos evidencia la presencia de compuestos fenólicos, sesquiterpenlactonas y alcaloides, en concordancia con lo reportado anteriormente en el tamizaje fitoquímico.

En el estudio de Tenorio (89) se realiza el análisis con estándares de cromatografía en capa fina y se destaca la utilidad de la cromatografía en capa fina como técnica de análisis previo de los extractos naturales ya que proporciona una idea de su composición. Al respecto, en el análisis de cromatografía en capa fina con estándares del extracto de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav, rutina evidenció un Rf de 0,098 y una coloración marrón oscura al ser revelada a luz UV a 365 nm, presentado una estructura similar al analito 2 de la muestra del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. Respecto al estándar quercetina, se obtuvo un Rf de 0,411 y una banda amarillenta bajo luz UV 254 nm, similar a lo evidenciado por el analito nueve de la muestra de extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. Por último, el estándar Hesperidina complejo evidenció un Rf de 0,497 y no se observan analitos similares en la muestra de extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. Se podría indicar la presencia de ambos estándares (rutina y quecertina) dentro de la muestra de extracto, ambos son compuestos fenólicos que posiblemente se encuentren superpuestos y se requeriría de una mayor purificación del extracto para llegar a la elucidación de estos estándares dentro de la muestra de extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav.

En la cromatografía en capa fina a escala preparativa se identificó 12 analitos presentes en el extracto (M1 al M12), de los cuales 3 fracciones (MI, MII y MII) corresponden a estructuras tipo flavonoides detectadas mediante espectroscopia UV/Vis. MI corresponde a un esqueleto básico de flavona (5,7,4´-trihidroxi-6,8,3´-trimetoxiflavona), al respecto en la literatura se ha reportado como una polimetoxiflavona con el nombre de sudachitina y que se encuentra presente en *Citrus sudachi* (90). Las polimetoxiflavonas han reportado bioactividades *in vitro* e *in vivo* como antiinflamatorio y anticancerígeno (90). Por otro lado, MII también corresponde a un esqueleto básico de flavona (5-hidroxi-6,7,8,3´,4´-pentametoxiflavona); se ha reportado que las polimetoxiflavonas 5-

hidroxilados presenta mayor potencia en actividades anticancerígenas y antiinflamatorias (91), en específico la 5-hidroxi-6,7,8,3′,4′-hexametoxiflavona, un compuesto similar, está involucrada en la inducción de apoptosis de células de cáncer de mama humano (92). La fracción MIII corresponde a 5,7,3´-trihidroxi-6,8,4´-trimetoxiflavona, en la literatura científica, un compuesto similar conocido como nevadesina (5,7-dihidroxi-6,8,4′-trimetoxiflavona) exhibe una amplia gama de actividades biológicas significativas, incluyendo actividades hipotensoras, antituberculosas, antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales y anticancerígenas (93). Los 3 compuestos encontrados en el presente estudio podrían ser los responsables de la actividad antimicrobiana reportada en el presente estudio.

La evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. se realizó mediante dos metodologías. En la primera evaluación, el método de difusión en agar evidenció actividad antimicrobiana, con halos de inhibición de 14,00 mm frente a *Staphylococcus aureus*, 15,00 mm frente a *Bacillus subtilis*, 14,00 mm frente a *Pseudomonas aeruginosa,* 14,00 mm frente a *Escherichia coli* y 14,33 mm frente a *Candida albicans*, a una concentración de 150 mg/mL del extracto de hojas. Estos resultados son consistentes con reportes previos en especies del mismo género; un estudio realizado con *Buddleja polystachya* reportó actividad antimicrobiana del extracto de hojas frente a *S. aureus* (22,00 mm) y *P. aeruginosa* (14,00 mm); sin embargo, no se evidenció actividad antifúngica frente a *C. albicans*, la cual fue reportada como resistente (94). Por otro lado, un estudio sobre *Buddleja indica* Lam. evidenció actividad antimicrobiana del extracto metanólico de sus hojas a una concentración de 50 mg/mL, presentado halos de inhibición frente a *S. aureus* (24,3 mm), *B. subtilis* (25,7 mm), *P. aeruginosa* (21,7 mm), *Escherichia coli* (24,9 mm) y *C. albicans* (19,4 mm) (37). Estos resultados se sintetizan en la Tabla 27, donde se comparan las actividades antimicrobianas reportadas para distintas especies del género *Buddleja*, considerando el tipo de extracto y la concentración empleada.

Tabla 27. Comparación de la actividad antimicrobiana de extractos del género *Buddleja* mediante el método de difusión en agar

Especie	Tipo de extracto	Conc. (mg/mL)	Halos de inhibición (mm)					Ref.
			Sa(*)	*Bs*(*)	Pa(*)	Ec(*)	Ca(*)	
***Buddleja incana* Ruiz & Pav.**	Hidroalcohólico (hojas)	150	14,0	15,0	14,0	14,0	14,3	Presente estudio
Buddleja polystachya	Hidroalcohólico (hojas)	NR	22,0	NR	14,0	NR	Resist.	(94)
***Buddleja indica* Lam.**	Metanólico (hojas)	50	24,3	25,7	21,7	24,9	19,4	(37)

(*) Sa (*Staphylococcus aureus*), Bs (*Bacillus subtilis*), Ec (*Escherichia coli*), Pa (*Pseudomonas aeruginosa*) y Ca (*Candida albicans*)

* NR: No reportado

Fuente: Elaboración propia

En el caso de las bacterias, el ANOVA de dos vías mostró diferencias significativas en los halos de inhibición según la concentración del extracto y el tipo de bacteria, así como en su interacción ($p < 0.05$). La prueba de Tukey corroboró estas diferencias, evidenciando que el extracto presenta una respuesta dependiente de la dosis y que la susceptibilidad varía entre especies bacterianas, con *Bacillus subtilis* mostrando mayor sensibilidad relativa. No obstante, el control positivo (ciprofloxacino) presentó halos de inhibición significativamente mayores que los obtenidos con el extracto, confirmando su mayor potencia antimicrobiana.

Por otro lado, para *Candida albicans* se aplicó un ANOVA de una vía considerando únicamente el factor concentración. Aunque se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$), la prueba de Tukey indicó que no existen diferencias relevantes entre las distintas concentraciones del extracto, ya que todas se agrupan en el mismo nivel estadístico. Esto sugiere que, a diferencia de las bacterias, el incremento de la concentración no modifica sustancialmente la actividad antifúngica, manteniéndose en un rango similar de inhibición. En este caso, el control positivo (fluconazol) mostró halos de inhibición

considerablemente superiores, lo que confirma su mayor eficacia frente a la levadura en comparación con el extracto.

La segunda metodología empleada fue la microdilución colorimétrica, la cual permite evaluar de manera cuantitativa la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav, esta se ensayó frente a diferentes bacterias y levadura. En el caso de *Escherichia coli*, no se evidenció actividad antimicrobiana. Según el estudio Fawzy et al. (49), el cual se preparó un extracto etanólico de *Buddleja polystachya* y se realizó fracciones en diclorometano, acetato de etilo, n-butanol y extractos acuosos; sobre estos dos últimos no evidenciaron actividad frente a *E. coli*. Sin embargo, las fracciones obtenidas con diclorometano y acetato de etilo presentaron actividad antimicrobiana moderada, ambos con un valor de CMI de 62,5 µg/mL. Es importante recalcar que dicho estudio también reportó que los extractos con diclorometano y acetato de etilo fueron los que presentaron mayor citotoxicidad en células humanas. En otro estudio donde se evaluó el extracto metanólico de *Buddleja asiática* (fracción de cloroformo) no mostró actividad contra *E. coli*. Los autores sugieren que esta ausencia de actividad podría deberse al momento de recolección, al método de extracción o a la variación geográfica de la especie (95).

Para *Staphylococcus aureus* se evidenció un CMI de 500,0 µg/mL. En comparación con otro estudio donde se ensayó con extracto etanólico de *Buddleja polystachya* y se realizó fracciones, la fracción con diclorometano evidenció un CMI de 250,0 µg/mL; la fracción con acetato de etilo obtuvo un CMI de 62,5 µg/mL; la fracción con n-butanol obtuvo un CMI de 1000,0 µg/mL y por último, la fracción acuosa no se evidenció actividad (49). Con respecto, a *Buddleja salviifolia* también se realizaron diferentes fracciones, en el cual las fracciones de mayor actividad fueron de diclorometano con un CMI de 780,0 µg/mL y la fracción con acetato de etilo obtuvo un CMI de 390,0 µg/mL (47). Avila et al. (96) reportaron que el extracto metanólico de *Buddleja cordata* presenta una CMI de 400,0 µg/mL, un valor aproximado a los resultados obtenidos.

Para *Bacillus subtilis* se obtuvo un CMI de 2000,0 µg/mL, en la literatura, se reporta un estudio respecto al extracto metanólico acuoso de la especie *Buddleja salviifolia* donde *el extracto crudo evidenció un CMI de 3125,0* µg/mL, asimismo, se realizó diferentes fracciones tales como en Hexano y Diclorometano, donde

obtuvieron de igual forma un CMI de 3125,0 µg/mL; estos valores indican que el extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* elaborado presenta una mayor actividad (47).

Continuando con *Pseudomonas aeruginosa* no se evidenció actividad antimicrobiana frente a esta bacteria. Comparándolo con otro estudio donde se elaboró un extracto etanólico de *Buddleja polystachya* y se realizó fracciones, la fracción con n-butanol y acuosa de igual forma no presentan actividad, sin embargo, las fracciones de diclorometano y acetato de etilo presentan un CMI de 500,0 µg/mL y 125,0 µg/mL, respectivamente (49).

Con respecto a *Candida albicans*, se obtuvo una CMI de 500,0 µg/mL. En un estudio sobre el extracto metanólico acuoso de *Buddleja salviifolia*, el extracto crudo y la fracción en n-butanol mostraron una CMI de 1560,0 µg/mL. La fracción obtenida con acetato de etilo presentó una CMI de 780,0 µg/mL. Estos valores indican que el extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* elaborado presenta una mayor actividad (47). Asimismo, estos resultados y su comparación con la literatura se resumen de forma sistematizada en la Tabla 28.

Tabla 28. Comparación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de extractos de especies del género *Buddleja* frente a diferentes microorganismos

Especie	Tipo de extracto	Fracción	Concentración mínima inhibitoria (µg/mL)					Ref.
			***Sa*(*)**	***Bs*(*)**	***Pa*(*)**	***Ec*(*)**	***Ca*(*)**	
***Buddleja incana* Ruiz & Pav.**	Hidroalcohólico (hojas)	Extracto crudo	**500**	**2000**	NA	NA	**500**	Presente estudio
Buddleja polystachya	Hidroalcohólico (hojas)	Diclorometano	**250**	NR	**500**	**62,5**	**1000**	(49)
		Acetato de etilo	**62,5**	NR	**125**	**62,5**	**125**	
		n-butanol	**1000**	NR	NA	NA	NA	
		Acuosa	NA	NR	NA	NA	NA	
Buddleja salviifolia	Metanólico (hojas)	Extracto crudo	**3125**	**3125**	NR	**6250**	**1560**	(47)
		Diclorometano	**780**	**3125**	NR	**1560**	**390**	
		Acetato de etilo	**390**	**780**	NR	**1560**	**780**	
Buddleja asiatica	Metanólico (hojas)	Cloroformo	NR	NR	NR	NA	NR	(95)
Buddleja cordata	Metanólico (hojas)	Extracto crudo	**400**	NR	NR	NR	NR	(96)

(*) Sa (*Staphylococcus aureus*), Bs (*Bacillus subtilis*), Ec (*Escherichia coli*), Pa (*Pseudomonas aeruginosa*) y Ca (*Candida albicans*)

* NR: No reportado

* NA: No presenta actividad

Fuente: Elaboración propia

En base a los resultados obtenidos con el extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana*, se formuló un gel dermatológico a concentraciones de 1,0%, 3,0% y 5,0%. Estas concentraciones fueron seleccionadas considerando que diversos estudios sobre formulaciones elaboradas con otras especies del género *Buddleja*

reportan rangos de uso entre 0,01% y 10,0%, siendo los valores más comunes aquellos comprendidos entre 0,5% y 3,0%, en los cuales se ha evidenciado su actividad farmacológica (97). Asimismo, a diferencia del extracto, la evaluación de la actividad antimicrobiana del gel elaborado a partir de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. se realizó mediante una única metodología: el método de difusión en agar. Bajo este ensayo, el gel mostró frente a *Escherichia coli* halos de inhibición promedio de 16,67 mm para la concentración al 1,0% (10 mg/mL), 17,5 mm para el 3,0% (30 mg/mL) y 19,0 mm para el 5,0% (50 mg/mL) (68). Asimismo, no se han encontrado estudios sólidos que evalúen la actividad antimicrobiana de algún gel perteneciente al género *Buddleja,* sin embargo, comparamos con otras especies de plantas relevantes tales como el extracto alcohólico de gel de Aloe vera en el cual se obtuvo las siguientes zonas de inhibición que oscilaron entre 7,87 y 12,23 mm (50 mg/mL), 8,53 y 17,23 mm (100 mg/mL) y 7,43 y 10,67 mm (200 mg/mL) para *E. coli* (98).

Frente a *Staphylococcus aureus*, se obtuvieron halos de inhibición promedio de 18,0 mm para la concentración al 1,0% (10 mg/mL), 20,0 mm para el 3,0% (30 mg/mL) y 21,33 mm para el 5,0% (50 mg/mL). Estos valores son superiores a los reportados en un estudio donde se evaluó la actividad antimicrobiana de un gel elaborado con extracto de *Cochlospermum regium*, en el cual se obtuvieron zonas de inhibición de 13 mm y 14 mm frente a *S. aureus* sensible a meticilina (MSSA), a concentraciones de 0,5% y 1,0%, respectivamente (99). Asimismo, en otro estudio donde se desarrolló un gel poliherbal compuesto por extractos acuosos de *Murraya koenigii, Eucalyptus globulus, Dodonaea viscosa* y *Mentha spicata* a una concentración total del 19,2%, se reportó un halo de inhibición de 20,0 mm, valor comparable al obtenido con la concentración al 3,0% en el presente trabajo (100).

Frente a *Bacillus subtilis* se evidenció halos de inhibición promedio de 16,0 mm para la concentración al 1,0% (10 mg/mL), 17,67 mm para el 3,0% (30 mg/mL) y 18,50 mm para el 5,0% (50 mg/mL). Según la literatura, se ha evaluado la actividad antimicrobiana de productos herbales elaborados a base de propóleo, ajo, neem, aloe vera y romero. Entre ellos, los productos formulados con propóleo y romero mostraron la mayor actividad frente a *S. aureus*, con valores promedio de halos de inhibición de 23,64 mm y 13,80 mm, respectivamente (101).En otro estudio, se evaluó un gel herbal compuesto por extracto de *Allium*

cepa (cebolla china), *Azadirachta indica* (Yin Lian Ye) y *Mentha piperita* (menta piperita china). Los resultados mostraron que el gel de mayor concentración presentó un halo de inhibición de 3,1 mm frente a *Bacillus subtilis* (medido de manera independiente al diámetro del pocillo aprox 10 mm) (102).

Frente a *Pseudomonas aeruginosa* se obtuvo halos de inhibición promedio de 16,67 mm para la concentración al 1,0% (10 mg/mL), 17,67 mm para el 3,0% (30 mg/mL) y 19,0 mm para el 5,0% (50 mg/mL). Comparándolo con otro estudio, en el cual se evaluó un gel herbal que contiene extracto de hojas de *Azadirachta indica*, se observó frente a *Pseudomonas aeruginosa* un halo de inhibición de 15,6 ± 0,6 mm (103).

Con respecto a la levadura, *Candida albicans,* se evidenció actividad antimicótica en las tres concentraciones evaluadas, obteniéndose halos de inhibición de 19,33 mm para el 1,0% (10 mg/mL), 20,67 mm para el 3,0% (30 mg/mL) y 22,33 mm para el 5,0% (50 mg/mL). Asimismo, otro estudio que evaluó la actividad de geles herbales comparó sus resultados con un gel comercial de miconazol (Daktarin), el cual presentó un halo de inhibición de 25,45 ± 0,65 mm, valor similar al obtenido en la concentración del 5,0% del presente estudio (104). En otro estudio, se elaboró un gel herbal antimicótico compuesto por aceites esenciales de *Origanum vulgare y Syzygium aromaticum* a una concentración de 0,6 µL/mL, destinado al tratamiento de la candidiasis oral. El gel formulado mostró una eficacia antifúngica comparable al fármaco de referencia (fluconazol), obteniéndose una zona de inhibición cercana a 19 mm (diámetro de pocillo 6 mm) (105).

El ANOVA de dos vías mostró diferencias altamente significativas en los halos de inhibición según la concentración y el tipo de bacteria, así como en su interacción ($p < 0.05$). Esto indica que la eficacia del gel depende tanto de la concentración aplicada como de la susceptibilidad particular de cada microorganismo. La prueba de Tukey confirmó estas diferencias, se observó que las concentraciones más altas (5%) generaron halos de inhibición significativamente mayores, mientras que las concentraciones intermedias (3% y 1%) mostraron una actividad más moderada. Al comparar con el control positivo (ciprofloxacino), se evidenció que este presentó halos de inhibición considerablemente superiores, lo que confirma su mayor potencia antimicrobiana frente a todas las bacterias evaluadas.

En el caso de *Candida albicans*, el ANOVA de una vía mostró diferencias significativas en los halos de inhibición según la concentración del gel ($p < 0.05$). La prueba de Tukey confirmó estas diferencias, estableciendo una clara separación entre los grupos: el control positivo (fluconazol) presentó la mayor actividad antifúngica, con halos significativamente superiores, mientras que las concentraciones de gel al 5%, 3% y 1% mostraron una actividad intermedia y estadísticamente diferente entre sí. El control negativo (Gel base) se ubicó en el grupo de menor actividad, confirmando que el efecto observado corresponde al gel y no al vehículo. Estos resultados indican que, a diferencia de lo observado con el extracto hidroalcohólico, el gel sí presenta una variación más marcada entre concentraciones frente a *Candida albicans*, con un incremento progresivo de la actividad antifúngica conforme aumenta la concentración. El control positivo (fluconazol) mantiene una potencia superior, lo que resalta la diferencia entre un fármaco de referencia y un producto natural en desarrollo.

Continuando, respecto al estudio farmacotécnico, el producto terminado (gel dermatológico) presentó características fisicoquímicas y organolépticas conformes a las especificaciones establecidas. Para la concentración al 1,0%, el gel mostró un aspecto homogéneo de color marrón oscuro, un pH de 5,76 y una extensibilidad de 32.17 cm^3. La concentración al 3,0%, obtuvo un aspecto homogéneo de color marrón oscuro a negro, un pH de 5,74 y una extensibilidad de 32.66 cm^3. Por último, la concentración al 5,0% evidenció un aspecto homogéneo de color marrón oscuro a negro, un pH de 5,77 y una extensibilidad de 33.27 cm^3. Asimismo, el rango de pH establecido fue de 5,0 - 6,0 un rango muy cercano al pH de la piel, ya que según Schmid-Wendtner et al. (106),la superficie cutánea presenta un “manto ácido” que favorece la integridad de la barrera, la actividad enzimática normal del estrato córneo y la protección frente a colonización microbiana, por lo que, formular cerca del pH fisiológico de la piel reduce la irritación y mantiene la función barrera. Por otra parte, el pH tiene un impacto en los metabolitos activos del extracto de *Buddleja incana*, tales como los compuestos fenólicos, flavonoides, entre otros que muestran una menor estabilidad en condiciones neutras a alcalinas, donde ocurren reacciones de oxidación y pérdida cuantitativa del compuesto original (107,108). Por tanto, un pH ligeramente ácido preserva la integridad y la actividad del extracto.

Por último, en relación con la formulación del gel, el gel de extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* mostró una mayor actividad antimicrobiana en comparación con el extracto solo. Según la literatura, este incremento se atribuye al efecto sinérgico generado entre los excipientes y el principio activo. Mistry et al. (109), señala que excipientes como el propilenglicol pueden mejorar la solubilidad, penetración y difusión de los compuestos bioactivos; mientras que los conservantes, como metilparabeno y propilparabeno, presentan actividad antimicrobiana intrínseca (110). Por su parte, Zheng et al. (111), indica que la matriz polimérica de Carbopol 940 favorece una liberación más sostenida del extracto, lo que se traduce en halos de inhibición de mayor diámetro. Asimismo, Wu et al. (112), menciona que hidrogeles formulados con Carbopol 940 que incorporan compuestos bioactivos de *Euphorbia humifusa* demostraron una mejora significativa en la cicatrización de heridas infectadas por *Staphylococcus aureus*. En dicho estudio, la actividad antibacteriana *in vivo* se evaluó mediante la cuantificación de bacterias presentes en las heridas en distintos tiempos experimentales. Los hidrogeles que contenían únicamente un flavonoide o ninguno mostraron un efecto de esterilización moderado, atribuible principalmente a la ausencia de nutrientes para las bacterias y a la actividad antimicrobiana intrínseca del Carbopol. Sin embargo, la incorporación simultánea de quercetina (QU) y luteolina (LU) potenció significativamente la acción antibacteriana del hidrogel, alcanzando hasta un 82,3 % de reducción bacteriana, lo que evidencia un efecto sinérgico frente a *S. aureus*. En conjunto, estas interacciones entre excipientes y principios activos han sido ampliamente descritas como mecanismos que incrementan la eficacia antimicrobiana en formulaciones tópicas.

VII. CONCLUSIONES

- La composición fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav mediante tamizaje fitoquímico, evidenció la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, carbohidratos, sesquiterpenlactonas, azúcares reductores, nafquinonas, antraquinonas y antronas, triterpenoides y esteroides. Asimismo, mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) con reveladores cromogénicos evidenció la presencia de compuestos fenólicos, sesquiterpenlactonas y alcaloides. Además, mediante la espectroscopia UV-Vis se identificó tres estructuras químicas tipo flavonoides presentes en el extracto de hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav: 5,7,4´-trihidroxi-6,8,3´-trimetoxiflavona, 5-hidroxi-6,7,8,3´,4´-pentametoxiflavona y 5,7,3´-trihidroxi-6,8,4´-trimetoxiflavona
- La actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav "quishuar" mediante el método de difusión en agar, la mayor concentración evaluada (150,0 mg/mL) evidenció actividad frente a *Escherichia coli, Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa* con un halo de inhibición de 14,0 mm*, Bacillus subtilis* (15,0 mm) y *Candida albicans* (14,33 mm). Por otro lado, en el método de microdilución colorimétrica, el extracto no presentó actividad frente a *E. coli* ni *P. aeruginosa*; sin embargo, mostró actividad frente a *S. aureus* y *B. subtilis*, con valores de CMI de 500,0 µg/mL y 2000,0 µg/mL, respectivamente. En cuanto a *C. albicans*, el extracto presentó una CMI de 500,0 µg/mL.
- La actividad antimicrobiana del gel dermatológico elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav. ("quishuar") mediante el método de difusión en agar, mostró halos de inhibición de mayor diámetro en comparación con el extracto, destacando la concentración al 5,0%, la cual presentó actividad frente a *Escherichia coli* (19,0 mm), *Staphylococcus aureus* (21,33 mm), *Bacillus subtilis* (18,50 mm) y *Pseudomonas aeruginosa* (19,0 mm). Asimismo, frente a *Candida albicans* se observó la mayor actividad antifúngica, obteniéndose un halo de inhibición de 22,33 mm.

VIII. RECOMENDACIONES

- Profundizar en la caracterización fitoquímica mediante el uso de técnicas adicionales, como la espectrometría de masas, que permitan confirmar de forma concluyente las estructuras propuestas en este estudio.
- Evaluar otras alternativas de fraccionamiento del extracto, con el fin de lograr una mayor eficiencia de separación de metabolitos y así determinar con mayor exactitud el metabolito responsable de la actividad antimicrobiana.
- Escalar la evaluación de la actividad antimicrobiana a modelos *in vivo*, con el propósito de corroborar los hallazgos obtenidos en sistemas *in vitro* y obtener una visión más amplia del desempeño del extracto dentro de un organismo.
- Evaluar el potencial efecto cicatrizante de la planta en estudios posteriores, considerando los metabolitos secundarios bioactivos identificados en el extracto.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Desai V, Kumar S, Patel B, N Patel S, Patadiya HH, Asawa D, et al. Navigating Antimicrobials and Combating Antimicrobial Resistance: Challenges, Impacts, and Strategies for Global Action. Cureus. 2025 April; 17(4):e82064. doi: 10.7759/cureus.82064.
2. La OMS advierte de la resistencia generalizada en todo el mundo a antibióticos de uso habitual [Internet]. [citado el 8 de diciembre de 2025]. Disponible en: https://www.who.int/es/news/item/13-10-2025-who-warns-of-widespread-resistance-to-common-antibiotics-worldwide
3. Global Antibiotic Resistance Surveillance Report 2025 WHO Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS). Geneve: World Health Organization; 2025.
4. Hernández-Díaz AA, Villagra-Savaria JI, Hernández-Hernández MA, Placencia-Acuña CA. Resistencia antimicrobiana en América Latina últimos 5 años, revisión narrativa. Arch Med Camagüey [Internet]. 2025 [citado el 8 de diciembre de 2025]; e10329. Disponible en: https://revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/10349
5. Rather IA, Kim BC, Bajpai VK, Park YH. Self-medication and antibiotic resistance: Crisis, current challenges, and prevention. Saudi J Biol Sci.2017 May; 24(4):808. doi: 10.1016/j.sjbs.2017.01.004.
6. Organización Mundial de la Salud (OMS). La falta de nuevos antibióticos pone en peligro los esfuerzos mundiales por contener las infecciones farmacorresistentes [Internet]. Ginebra: Organización de las Naciones Unidas; 2020 [citado el 1 de diciembre de 2025]. Disponible en: https://www.who.int/es/news/item/17-01-2020-lack-of-new-antibiotics-threatens-global-efforts-to-contain-drug-resistant-infections
7. Zhang X, Wang L, Mu H, Wang D, Yu Y. Synergistic antibacterial effects of *Buddleja albiflora* metabolites with antibiotics against *Listeria monocytogenes*. Lett Appl Microbiol. 2019 Jan; 68(1):38–47. doi: 10.1111/lam.13084.

8. Santivañez Acosta RM, Cabrera Meléndez JL. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud; 2019. 57 p.
9. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Resumen Ejecutivo: Biodiversidad. Anuario de Estadísticas Ambientales [Internet]. 2013 [citado 13 dic 2025]. Disponible en: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1140/Libro.pdf
10. De la Cruz H, Vilcapoma G, Zevallos PA. Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Peru. J Ethnopharmacol. 2007 May;111(2):284–94. doi: 10.1016/j.jep.2006.11.018.
11. Gonzales De La Cruz M, Baldeón S, Beltrán H, Jullian V, Bourdy G. Hot and cold: Medicinal plant uses in Quechua speaking communities in the high Andes (Callejón de Huaylas, Ancash, Perú). J Ethnopharmacol. 2014 Sep; 155(2):1093–117. doi: 10.1016/j.jep.2014.06.042.
12. Tamariz C, Olivera P, Santillán M. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical assessment of wild medicinal plants from Cordillera Blanca (Ancash, Peru). Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat. 2018;17(3):270–85.
13. Michalak M. Plant extracts as skin care and therapeutic agents. Int J Mol Sci. 2023;24(20):15444. doi:10.3390/ijms242015444.
14. Cabezas-Sánchez C. Enfermedades infecciosas desatendidas: un permanente reto para la salud pública y la equidad en el Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2014;31(2):326-35.
15. León B, Sánchez I. Buddlejaceae endémicas del Perú. Rev Peru Biol. 2006;13(2):190–190. doi: 10.15381/rpb.v13i2.1818.
16. Aguilar-Rodríguez S, Terrazas T. Anatomía de la madera de *Buddleja* L. (Buddlejaceae): análisis fenético. Madera y Bosques. 2001;7(2):63–85. doi: 10.21829/myb.2001.721312.
17. Puntieri JG, Vignoles E. *Buddleja davidii* (Scrophulariaceae), especie invasora nueva para la flora adventicia de la Argentina. Darwiniana, nueva serie. 2018;6(1):120-125. doi: 10.14522/darwiniana.2018.61.789.

18. Aguilar LC, Piepenstock A, Burgoa W. Especies nativas kewiña (*Polylepis sp.*) y kiswara (*Buddleja sp*.) en barreras vivas: una alternativa para reducir la degradación de suelos y mejorar las condiciones de vida en la zona altoandina de Bolivia. Acta Nova. 2019;4(2‑3):425‑38.
19. Enciso J, Amiel J, Miranda V, Mayanga A, Tapia S, Fabian F. Uso etnomedicinal, fitoquímica y actividad biológica de la planta andina *Buddleja incana* Ruiz & Pav.(Scrophulariaceae). Ethnobot Res Appl. 2020;20(0):1–14. doi: 10.32859/era.20.5.1-14
20. HVAA - *Buddleja incana* [Internet]. [citado el 4 de octubre de 2025]. Disponible en: https://herbariovaa.org/taxa/index.php?tid=24034
21. Tsumura Noda K. Modulación de la Ciclooxigenasa-2 en la inflamación gastrointestinal aguda mediante extracto de *Buddleja Incana* en ratas [tesis de pregrado]. Lima: Universidad Científica del Sur; 2006.
22. Ruiz A, Sinsay K. Anatomía foliar de *Buddleja incana* Ruiz & Pavon y *Buddleja coriacea* Remy procedentes de dos lugares de la provincia, Huancayo [tesis de pregrado]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú; 2024.
23. Fotos de quishuar (*Buddleja incana*) · iNaturalist Chile [Internet]. [citado el 8 de diciembre de 2025]. Disponible en: https://inaturalist.mma.gob.cl/taxa/704537-Buddleja-incana/browse_photos
24. Enriquez P, Aguilar P, Espín L, Zambrano A, Vargas C. Propagación *in vitro* de Quishuar (*Buddleja incana* Ruiz & Pavon). La Granja. 2020 Feb;31(1):61–71. doi: 10.17163/lgr.n31.2020.05.
25. Arboles de los ecosistemas forestales andinos - identificación de especies | SINIA [Internet]. [citado el 21 de octubre de 2025]. Disponible en: https://sinia.minam.gob.pe/documentos/arboles-ecosistemas-forestales-andinos-identificacion-especies
26. Quishuar | Jardín Botánico ISTMAS [Internet]. [citado el 21 de octubre de 2025]. Disponible en: https://herbario.istmas.edu.ec/scrophulariaceae/quishuar/
27. Quishuar (Plantas útiles del bosque alto andino Colombiano (Vereda Mancilla, Facatativá)) · iNaturalist [Internet]. [citado el 3 de noviembre de 2025]. Disponible en: https://www.inaturalist.org/guide_taxa/1616961

28. Houghton P. Ethnopharmacology of some *Buddleja* species. J Ethnopharmacol. 1984 Aug;11(3):293–308. doi: 10.1016/0378-8741(84)90075-8.
29. Heim E. Catalog of Vascular Plants of Arequipa, Peru. BoD - Books on Demand;2025. 160 p.
30. Miranda Garcia VE. Evaluación de la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* del extracto metanólico de hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* [tesis de posgrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019.
31. Cuba K, Miranda K, Canchaya H, Sotomayor A, Yoshizawa A. Determinación de la actividad antioxidante de extractos de hojas de *Buddleja inkana*, *Oreocallis grandiflora* y *Chuquiraga spinosa*. Rev Soc Quím Perú. 2021;87(2):107–19. doi:10.37761/rsqp.v87i2.343.
32. Shamsudin N, Ahmed Q, Mahmood S, Shah S, Khatib A, Mukhtar S, et al. Antibacterial effects of flavonoids and their structure-activity relationship study: a comparative interpretation. Molecules. 2022;27(4):1149. doi:10.3390/molecules27041149.
33. Yan Y, Xia X, Fatima A, Zhang L, Yuan G, Lian F, et al. Antibacterial activity and mechanisms of plant flavonoids against gram-negative bacteria based on the antibacterial statistical model. Pharmaceuticals. 2024;17(3):292.doi: 10.3390/pharmaceuticals17030292.
34. Ninfali P, Antonelli A, Magnani M, Scarpa E. Antiviral properties of flavonoids and delivery strategies. Nutrients. 2020;12(9):2534. doi:10.3390/nu12092534.
35. Roy A, Khan A, Ahmad I, Alghamdi S, Rajab B, Babalghith A, et al. Flavonoids a bioactive compound from medicinal plants and its therapeutic applications. Biomed Res Int. 2022;2022:5445291. doi:10.1155/2022/5445291.
36. Youssef F, Ashour M, Wink M. Morphological, anatomical, genetical and high-performance thin-layer chromatography profiling of *Buddleia indica* (Scrophulariaceae). Flora. 2018;246-247:83-95. doi: 10.1016/j.flora.2018.07.007.
37. Youssef F, Altyar A, Omar A, Ashour M. Phytoconstituents, *in vitro* anti-infective activity of *Buddleja indica* Lam., and *in silico* evaluation of its

SARS-CoV-2 Inhibitory Potential. Front Pharmacol. 2021;12:619373. doi:10.3389/fphar.2021.619373.

38. Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: a review. Antibiotics. 2021;10(3):318. doi:10.3390/antibiotics10030318.
39. Othman L, Sleiman A, Abdel-Massih RM. Antimicrobial activity of polyphenols and alkaloids in middle eastern plants. Front Microbiol. 2019;10:553. doi:10.3389/fmicb.2019.00553.
40. Youssef F, Ashour M, El-Beshbishy H, Singab ANB, Wink M. Metabolic profiling of *Buddleia indica* leaves using LC/MS and evidence of their antioxidant and hepatoprotective activity using different *in vitro* and *in vivo* experimental models. Antioxidants. 2019;8(9):412. doi: 10.3390/antiox8090412.
41. Julca G, Reyes N. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Buddleja globosa* Hope (matico) frente *a Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [tesis de pregrado]. Chimbote: Universidad San Pedro; 2022.
42. Nafees M, Barkatullah, Ullah S, Ikram N. Phytochemical and pharmacognostic studies of *Buddleja asiatica* leaves. Microsc Res Tech. 2022;85(2):510–20. doi:10.1002/jemt.23951.
43. Karki S, Sapkota B. Antioxidant, antibacterial and analgesic activities of *Buddleja asiatica* extract. Nepal J Health Sci. 2022;2(2):21–6.
44. Mathez-Stiefel SL, Huamán M. Qora Hampiyku: nuestras plantas medicinales en las comunidades de Pitumarca, Cusco, Perú. Berna,Suiza: Centre for Development and Environment (CDE), University of Bern, en colaboración con Bern Open Publishing (BOP); 2018. 55 p.
45. Castro Guzmán S, Cano Asseleih LM, Sánchez Sánchez O, Castro Guzmán S, Cano Asseleih LM, Sánchez Sánchez O. Plantas medicinales de los Tének de San Francisco, Chontla, Veracruz, México. Polibotanica. 2021;0(52):213–39. doi: 10.15446/polibotanica.v0n52.86455.
46. López B, Ortonobes S, Rebollar CAG. Ungüentos, pomadas, cremas, geles y pastas: ¿es todo lo mismo? Form Act Pediatr Aten Prim. 2015;8(4):183–7.
47. Pendota S, Aderogba M, Ndhlala A, Van Staden J. Antimicrobial and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Buddleja salviifolia* (L.) Lam.

leaf extracts and isolated compounds. J Ethnopharmacol. 2013;148(2):515–20. doi:10.1016/j.jep.2013.04.047.

48. Araya N, Leiva M, Bruna M, Castro A, Behrend B, Moraga D, et al. Formulation of water-soluble *Buddleja globosa* Hope extracts and characterization of their antimicrobial properties against *Pseudomonas aeruginosa.* Front Pharmacol. 2022;13:921511. doi:10.3389/fphar.2022.921511.
49. Fawzy G, Gamal A, Ati H. Antimicrobial and cytotoxic potentials of *Buddleja polystachya* extracts. Bangladesh J Pharmacol. 2013;8(2):136–41. doi:10.3329/bjp.v8i2.13844.
50. Mensah A, Houghton P, Bloomfield S, Vlietinck A, Berghe D. Known and novel terpenes from *Buddleja globosa* displaying selective antifungal activity against dermatophytes. J Nat Prod. 2000;63(9):1210–3. doi:10.1021/np0001023.
51. Khan F, Jan A, Khan N, Khan N, Khan S. GC/MS analysis, antimicrobial and *in vitro* anti-cholinesterase activities of the essential oil from *Buddleja asiatica*. Bangladesh J Pharmacol. 2015;10(4):891–5. doi:10.3329/bjp.v10i4.23991.
52. Zhang X, Wang L, Mu H, Wang D, Yu Y. Synergistic antibacterial effects of *Buddleja albiflora* metabolites with antibiotics against *Listeria monocytogenes*. Lett Appl Microbiol. 2019;68(1):38–47.
53. Al-Zahrani F, Salem S, Al-Ghamdi H, Nhari L, Lin L, El-Shishtawy R. Green synthesis and antibacterial activity of Ag/Fe2O3 nanocomposite using *Buddleja lindleyana* extract. Bioengineering. 2022;9(9):452. doi:10.3390/bioengineering9090452.
54. Cuevas S, Leal A, Hernández L, Arreola E, Bach H. Antimicrobial, toxicity, and anti-inflammatory activities of *Buddleja perfoliata* Kunth. Phytomed Plus. 2022;2(4):100357. doi:10.1016/j.phyplu.2022.100357.
55. Guija E, Alfaro A, De la Cruz F, Vera R, Núñez K, Espinoza N. Diferentes efectos sobre la proliferación de cultivos primarios de fibroblastos por extractos de *Buddleja incana*. Científica. 2009;6(2):134–141.
56. Tello-Cerón G, Pimentel M, Galarza V. Uso de las plantas medicinales del distrito de Quero, Jauja, Región Junín, Perú. Ecol Apl. 2019;18(1):11–20. doi:10.21704/rea.v18i1.1301.

57. Srinivasan K. Spices and flavoring crops: uses and health effects. Encyclopedia of Food and Health. 2016:98-105. doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00645-0.
58. Monteiro M, Mársico E, Lázaro C, Conte-Júnior C. Thin-layer chromatography applied to foods of animal origin: a tutorial review. J Anal Chem. 2016;71(5):459–70. doi: 10.1134/S1061934816050075.
59. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda S. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. J Pharm Anal. 2016;6(2):71–9. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005
60. NAL Agricultural Thesaurus: NALT Core: Estudios *in vitro* [Internet]. [citado el 4 de noviembre de 2025]. Disponible en: https://lod.nal.usda.gov/nalt/47062
61. Jung JH, Rim JA, Cho EJ, Lee SJ, Jeong IY, Kameda N, et al. Stabilization of an asymmetric bolaamphiphilic sugar-based crown ether hydrogel by hydrogen bonding interaction and its sol–gel transcription. Tetrahedron. 2007;63(31):7449–56. doi: 10.1016/j.tet.2007.02.068.
62. Hossain TJ. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. Eur J Microbiol Immunol (Bp). 2024;14(2):97–115. doi: 10.1556/1886.2024.00035.
63. Córdova EF, Martínez RB. Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Origanum vulgare* L. (orégano) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad María Auxiliadora; 2022.
64. Chinchaypujio en el departamento de Cusco - Municipio y municipalidad de Perú [Internet]. [citado el 4 de noviembre de 2025]. Disponible en: https://www.distrito.pe/distrito-chinchaypujio.html
65. Chase MW, Christenhusz MJM, Fay MF, Byng JW, Judd WS, Soltis DE, et al. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. Bot J Linn Soc. 2016;181(1):1–20. doi:10.1111/boj.12385.
66. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2da edición. Lima: Fondo Editorial PUCP; 1994. 98–102 p.

67. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. The Systematic Identification of Flavonoids. 1a ed. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer; 1970.
68. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2003;88(2–3):199–204. doi: 10.1016/S0378-8741(03)00212-5
69. Boonsai P, Phuwapraisirisan P, Chanchao C. Antibacterial activity of a cardanol from Thai *Apis mellifera* Propolis. Int J Med Sci. 2014;11(4):327. doi: 10.7150/ijms.7373
70. Cruickshank R. Medical Microbiology: The Practice of Medical Microbiology. 12a ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1974. 1–587 p.
71. Hudzicki J. Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. American Society for Microbiology [Internet]. 2009 [citado el 4 de noviembre de 2025]. Disponible en: https://asm.org/protocols/kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-pro
72. Rodriguez-Tudela J, Arendrup M, Barchiesi F, Bille J, Chryssanthou E, Cuenca-Estrella M, et al. EUCAST definitive document EDef 7.1: Method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. Clin Microbiol Infect. 2008;14(4):398–405. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01935.x.
73. Montgomery DC. Design and analysis of experiments. 8a ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc; 2013.
74. Sarker SD, Nahar L, Kumarasamy Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. Methods 2007;42(4):321–4.
75. Cardenas C. Actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto etanólico de *Prosopis pallida* “algarrobo” [tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
76. Liu M, Seidel V, Katerere D, Gray A. Colorimetric broth microdilution method for the antifungal screening of plant extracts against yeasts. Methods. 2007;42(4):325–9. doi: 10.1016/j.ymeth.2007.02.013.

77. Ruiz J., Salazar M, Gamarra G, Arias G, Whu D, Acosta E, et al. Actividad antiestafilocócica y antibiopelícula de los extractos de *Juglans neotropica* Diels, *Piper lineatum* Ruiz & Pav y *Terminalia catappa* L. Cienc Invest. 2013;16(1):32–7. doi: 10.15381/ci.v16i1.8633.
78. Jantarat C, Sirathanarun P, Chuchue T, Konpian A, Sukkua G, Wongprasert P. *In vitro* Antimicrobial Activity of Gel Containing the Herbal Ball Extract against *Propionibacterium acnes*. Sci Pharm. 2018;86(1):8. doi: 10.3390/scipharm86010008.
79. Condori D, García M. Efecto Antiinflamatorio Tópico de *Oenothera Rosea* (YAHUAR CHONKA) y *Caiophora Cirsiifolia* (ORTIGA COLORADA) en Animales de Experimentación – Arequipa 2018 [Tesis de pregrado]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2019.
80. Limaymanta J. Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de un gel preparado con extracto etanólico de *Marrubium vulgare* L [Tesis de Pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018.
81. Soto M. Determinación del efecto antimicrobiano *in vitro* de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby (Asteraceae) [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
82. Dantas M, Reis S, Damasceno C, Rolim L, Rolim-Neto PJ, Carvalho F, et al. Development and evaluation of stability of a gel formulation containing the monoterpene borneol. Sci World J. 2016;2016(1):7394685. doi: 10.1155/2016/7394685.
83. Teja R, Venkata K, Suresh J, Lakshmi R, Mouli P, Harshad S, et al. Pharmaceutical aspects of accelerated stability studies. Int J of Pharm Sci. 2024;02(09):976. doi: 10.5281/zenodo.13819980.
84. Pérez L. Citotoxicidad *in vitro* en células madre de cáncer gástrico y toxicidad aguda oral de los extractos metanólicos de hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* [Tesis para magister]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2023.
85. Vuyani Mabinya L, Mafunga T, Morgan Brand J. Determination of ferulic acid and related compounds by thin layer chromatography. Afr J Biotechnol. 2006;5(13):1271–3.

86. Georgina R, Montiel J, Isabel M, Macedo H, Moisés R, Gonzales P. Fraccionamiento bioguiado antimicrobiano de metabolitos secundarios de *Jungia axillaris* (Lag. ex DC.) Spreng, Asteraceae de las zonas altoandinas de Arequipa. South Fla J Dev. 2023;4(9):3594–611. doi:10.46932/sfjdv4n9-019.
87. Hostettmann K, Marston A. Saponins. In: Encyclopedia of Analytical Science. 2nd ed. Dorigny: Elsevier; 2005. p. 205–209. doi:10.1016/B0-12-369397-7/00548-3.
88. Rios J. Detección de alcaloides en semillas de plantas herbáceas nativas. Multequina. 2016; 22:51–5.
89. Tenorio M. Flavonoides extraídos de la cascara de naranja tangelo (*Citrus reticulata* x *Citrus paradisi*) y su aplicación como antioxidante natural en el aceite vegetal sacha inchi (*Plukenetia volubilis*). Sci Agrepecu. 2016; 7(4):419–31. doi: 10.17268/sci.agropecu.2016.04.07.
90. Toledo R, Tomás-Navarro M, Yuste JE, Crupi P, Vallejo F. An updateon citrus polymethoxyflavones: chemistry, metabolic fate, and relevantbioactivities. Eur Food Res Technol. 2024;250(8):2179–92. doi: 10.1007/s00217-024-04529-5.
91. Li S, Pan M, Lo C, Tan D, Wang Y, Shahidi F, et al. Chemistry and health effects of polymethoxyflavones and hydroxylated polymethoxyflavones. J Funct Foods. 2009;1(1):2–12. doi: 10.1016/j.jff.2008.09.003.
92. Sergeev I, Li S, Colby J, Ho CT, Dushenkov S. Polymethoxylatedflavones induce Ca2+- mediated apoptosis in breast cancer cells. Life Sci. 2006;80(3):245–53. doi: 10.1016/j.lfs.2006.09.006.
93. Brahmachari G. Nevadensin: Isolation, chemistry and bioactivity. Int J Green Pharm. 2010;4(4):213–9. doi: 10.4103/0973-8258.74128.
94. Alghamdi A, Khalid A, Ahmed A, Abdalgadir H, Bashir M, Abdalla A, et al. Therapeutic potential of *Buddleja Polystachya* Fresen (stem and leaves) extracts: antimicrobial and cytotoxic properties for ocular disease management. Discov Onc. 2024;15(1):282. doi: 10.1007/s12672-024-01138-2.
95. Ali F, Ali I, Khan HU, Khan A, Gilani A. Studies on *Buddleja asiatica* antibacterial, antifungal, antispasmodic and Ca++ antagonist activities. Afr J Biotechnol. 2011;10(39):7679–83.

96. Avila J, De Liverant J, Martínez A, Martínez G, Luis Muñoz J, Arciniegas A, et al. Mode of action of *Buddleja cordata* verbascoside against *Staphylococcus aureus*. J Ethnopharmacol. 1999; 66 (1): 75-8. doi: 10.1016/S0378-8741(98)00203-7.
97. Sene G, Loiseau A, Petit V, Théron E, Segond C. Composition for treating skin [Internet]. US: USPTO; US20090028969A1, 2009 [citado el 28 de noviembre de 2025]. Disponible en: https://patents.google.com/patent/US20090028969A1/en
98. Adzitey F, Agbolosu AA, Udoka UJ. Antibacterial effect of Aloe Vera gel extract on *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from the gastrointestinal tract of guinea fowls. WVJ. 2019;9(3):166–73.
99. Galvão F, Leite C, Andrade J, Castilho P, Castro T, Cardoso C, et al. *Cochlospermum regium* Leaf Extract Gel: A Natural Strategy Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Gels. 2025;11(10):831. doi: 10.3390/gels11100831
100. Rohini S, Dharmendra A. Formulation and evaluation of a polyherbal gel against *Staphylococcus aureus* causing skin disease. J Pharm Negat Results. 2022;13(Suppl 7):4489–95. doi:10.47750/pnr.2022.13.S07.561.
101. Bansal R, Bansal M, Wazir N, Matta MS, Jain S, Kaur J. Evaluation of antimicrobial activity of different herbal products against Bacillus subtilis, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* using agar diffusion test: an *in vitro* study. Dent J Adv Stud. 2020;8(3):109–14. doi:10.1055/s-0040-1715288.
102. Upadhyay C, Vibha, Pathak D, Kulshreshtha M. Preparation and evaluation of different herbal gels synthesized from Chinese medicinal plants as antimicrobial agents. Pharmacol Res Mod Chin Med. 2023;9:100313. doi:10.1016/j.prmcm.2023.100313.
103. Munir M, Shah S, Almas U, Khan F, Zaidi A, Bukhari S, et al. An assessment of the wound healing potential of a herbal gel containing an *Azadirachta indica* leaf extract. Vet Med (Praha). 2021;66(3):99–109. doi: 10.17221/46/2020-VETMED.

104. Iraqui P, Chakraborty T, Das M, Yadav R. Herbal antimicrobial gel with leaf extract of *Cassia alata* L. J Drug Deliv Ther. 2019;9(3):82–94. doi:10.22270/jddt.v9i3.2527.

105. Jayasankar P, Awatiger M, Mulla R, Kurangi B, Shahapuri S, Mane DR. Formulation and development of a herbal antifungal gel containing *Origanum vulgare* and *Syzygium aromaticum* essential oils against oral *Candida albicans*. Cureus. 2024;16(2). doi: 10.7759/cureus.54348.

106. Schmid-Wendtner M, Korting H. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. Skin Pharmacol Physiol. 2006;19(6),296–302. doi: 10.1159/000094670.

107. Spiegel M, Cel K, Sroka Z. Mechanistic insights into the role of pH and solvent on antiradical and prooxidant properties of polyphenols - nine compounds case study. Food Chem. 2023;407:134677. doi:10.1016/j.foodchem.2022.134677.

108. Friedman M, Jürgens HS. Effect of pH on the stability of plantphenolic compounds. J Agric Food Chem. 2000;48(6):2101–10. doi: 10.1021/jf990489j.

109. Mistry J, Notman R. Mechanisms of the Drug Penetration Enhancer Propylene Glycol Interacting with Skin Lipid Membranes. J. Phys. Chem. B. 2024;128(16):3885–97. doi: 10.1021/acs.jpcb.3c06784.

110. Stroppel L, Schultz-Fademrecht T, Cebulla M, Blech M, Marhöfer RJ, Selzer PM, et al. Antimicrobial Preservatives for Protein and Peptide Formulations: An Overview. Pharmaceutics. 2023;15(2):563. doi: 10.3390/pharmaceutics15020563.

111. Zheng Y, Ouyang WQ, Wei YP, Syed SF, Hao CS, Wang BZ, et al. Effects of Carbopol®934 proportion on nanoemulsion gel for topical and transdermal drug delivery: A skin permeation study. Int J Nanomedicine. 2016;11:5971–87. doi: 10.2147/ijn.s119286.

112. Wu X, Chen HW, Zhao ZY, Li L, Song C, Xiong J, et al. Carbopol 940-based hydrogels loading synergistic combination of quercetin and luteolin from the herb *Euphorbia humifusa* to promote *Staphylococcus aureus* infectedwound healing. RSC Med Chem. 2024;15(2):553–60. doi: 10.1039/d3md00611e.

X. ANEXOS

ANEXO N°1 Constancia del Museo de Historia Natural de la UNMSM



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

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

CONSTANCIA N° 083-USM-MHN-2022

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

La muestra vegetal recibida de doña **Valery Romina Domínguez Parco**, para la tesis para optar el título Profesional de Químico Farmacéutico, ha sido estudiada y clasificada como: *Buddleja incana* (L.) Small y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

CLASE: Equisetopsida
SUBCLASE : Magnoliidae
SUPERORDEN : Asteranae
ORDEN : Lamiales
FAMILIA : SCROPHULARIACEAE
GÉNERO : *Buddleja*
ESPECIE : *Buddleja incana* Ruiz & Pav.

Nombre vulgar: "QUISHUAR"

Determinado por: Msc. Hamilton Beltrán Santiago.

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

Lima, 8 de noviembre de 2022

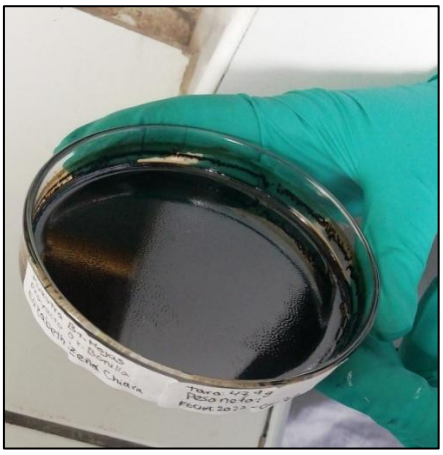
Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-034, Lima 14, Perú
Telfs. (511)471-0117, 470-4471
265-6819, 619-7000 anexo 5703
e-mail: herbariousm@unmsm.edu.pe
https://museohn.unmsm.edu.pe

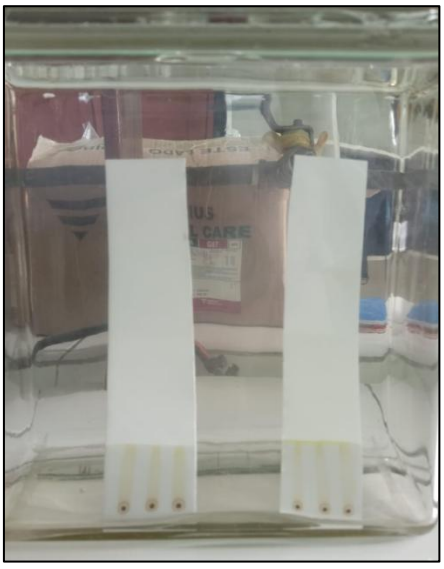
ANEXO N°2 Secado de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav



ANEXO N°3 Obtención del extracto seco de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav



ANEXO N°4 Cromatografia en capa fina del extracto seco de las hojas de *Buddleja incana* Ruiz & Pav

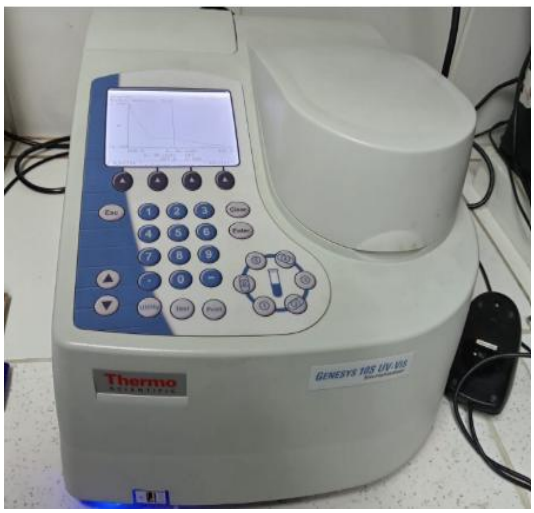


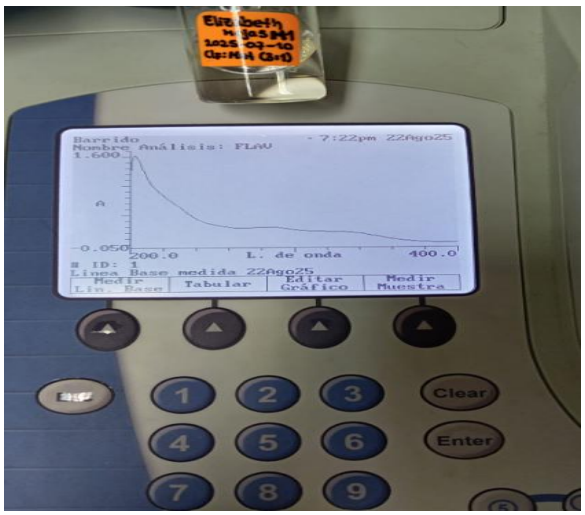
ANEXO N°5 Procedimiento de desorción de las fracciones para la lectura en el espectrofotómetro



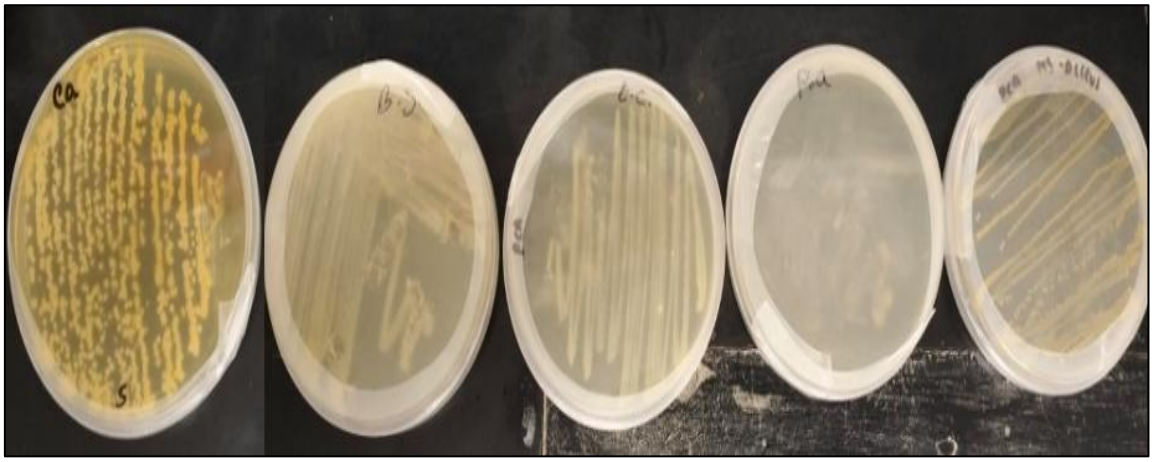




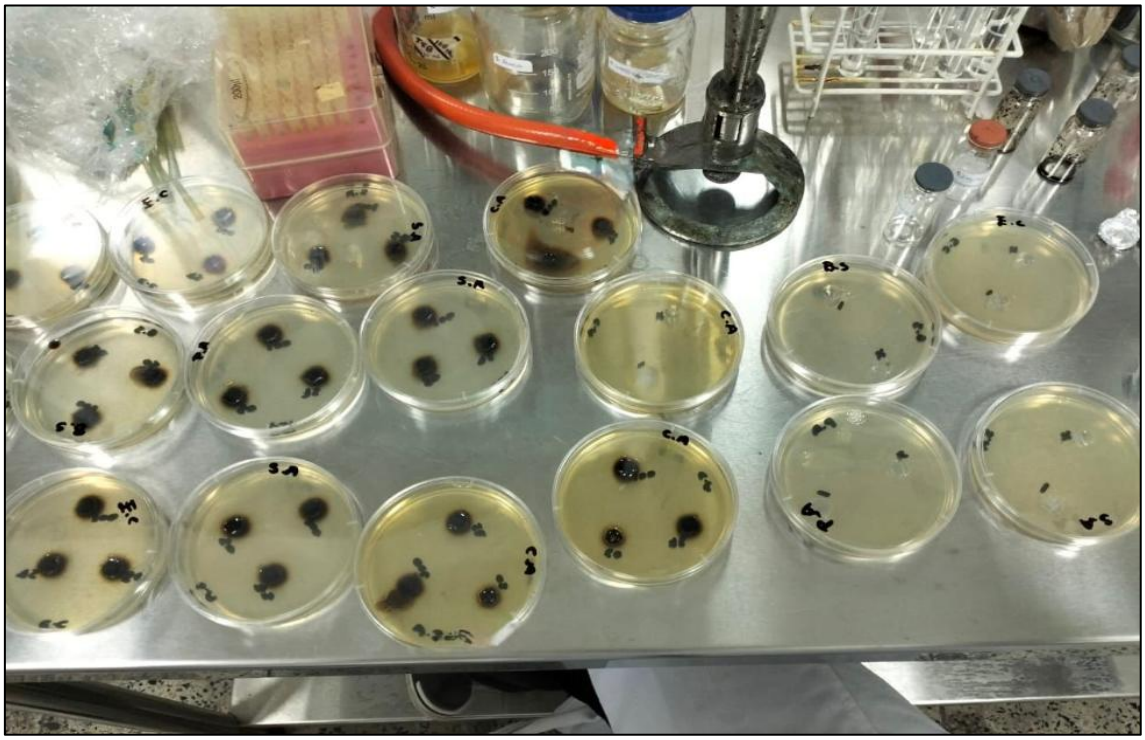




ANEXO N°6 Cepas ATCC para el ensayo de difusión en agar



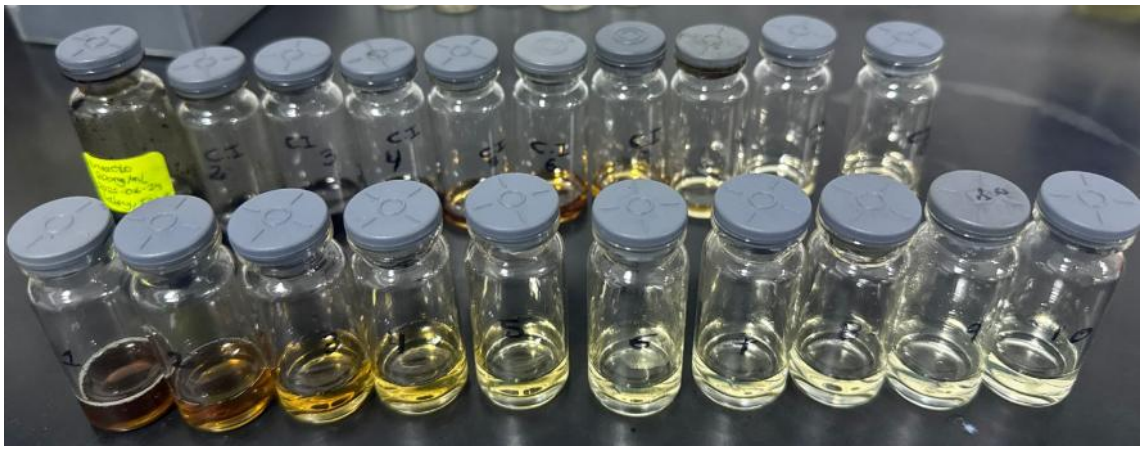
ANEXO N°7 Ensayo de difusión en agar del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav antes de incubar



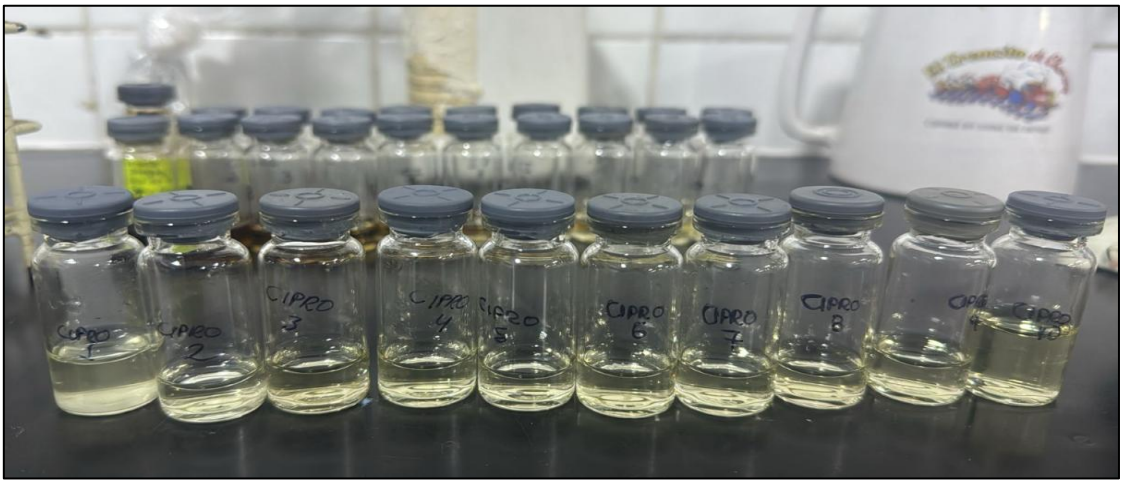
ANEXO N°8 Preparación de material para el ensayo de microdilución colorimétrica



ANEXO N°9 Diluciones intermedias y finales del extracto hidroalcohólico de *Buddleja incana* Ruiz & Pav para el ensayo de microdilución colorimétrica



ANEXO N°10 Diluciones del ciprofloxacino



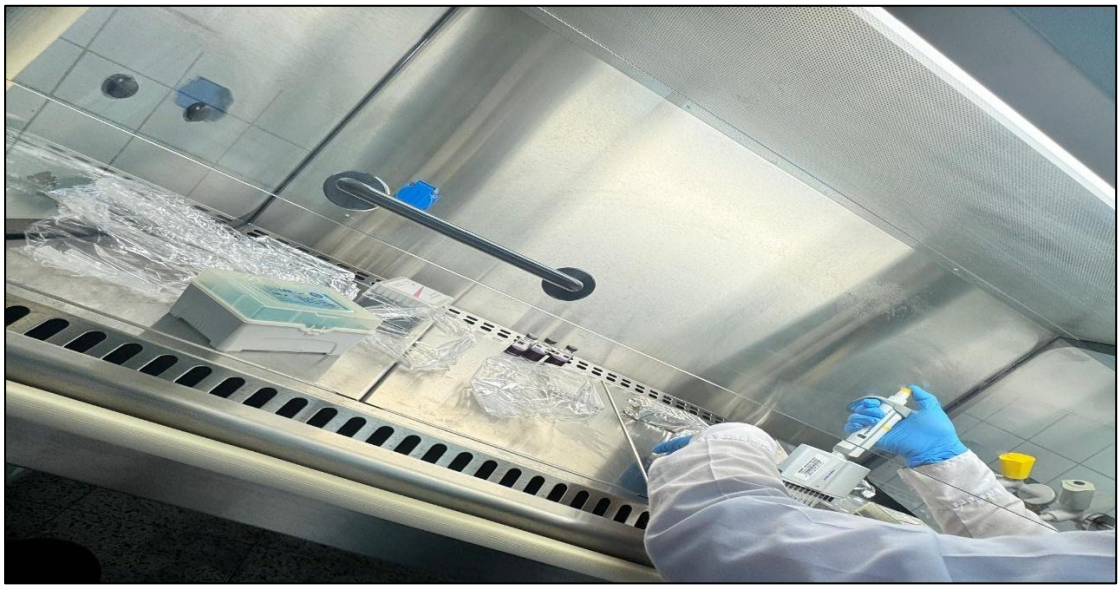
ANEXO N°11 Preparación de los inóculos



ANEXO N°12 Preparación de los materiales en la cabina de bioseguridad



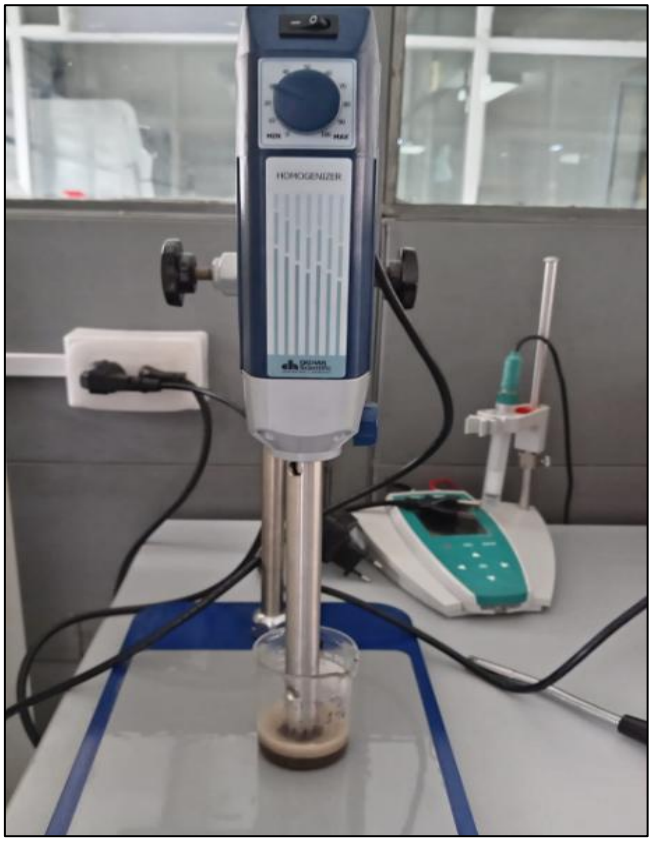
ANEXO N°13 Ensayo de microdilución colorimétrica



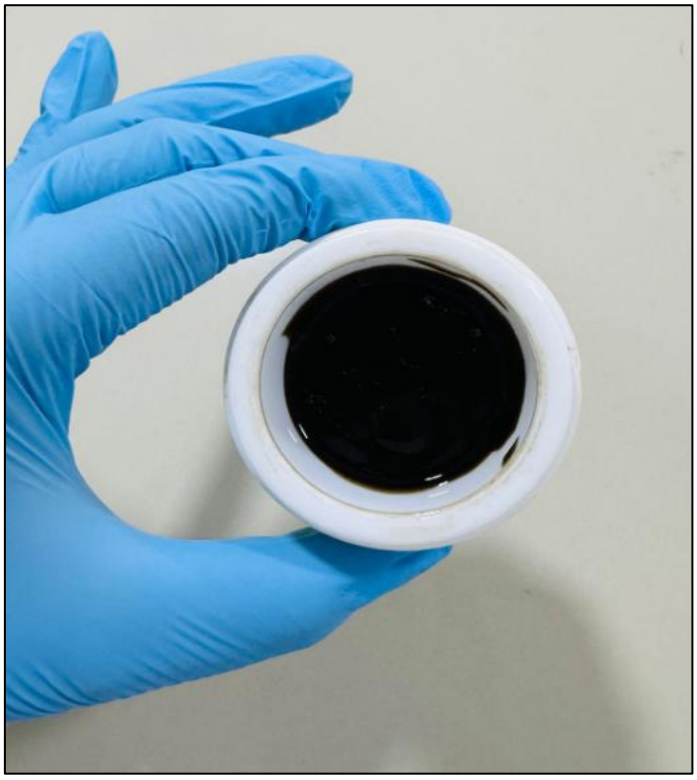
ANEXO N°14 Elaboración del gel base



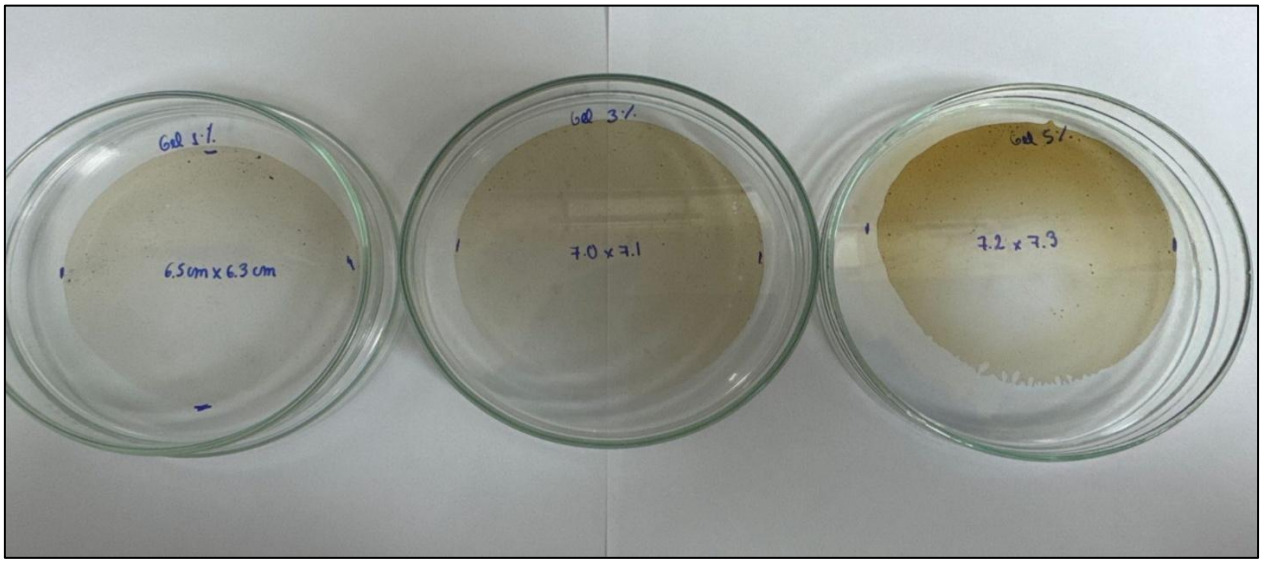
ANEXO N°15 Preparación del gel del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav



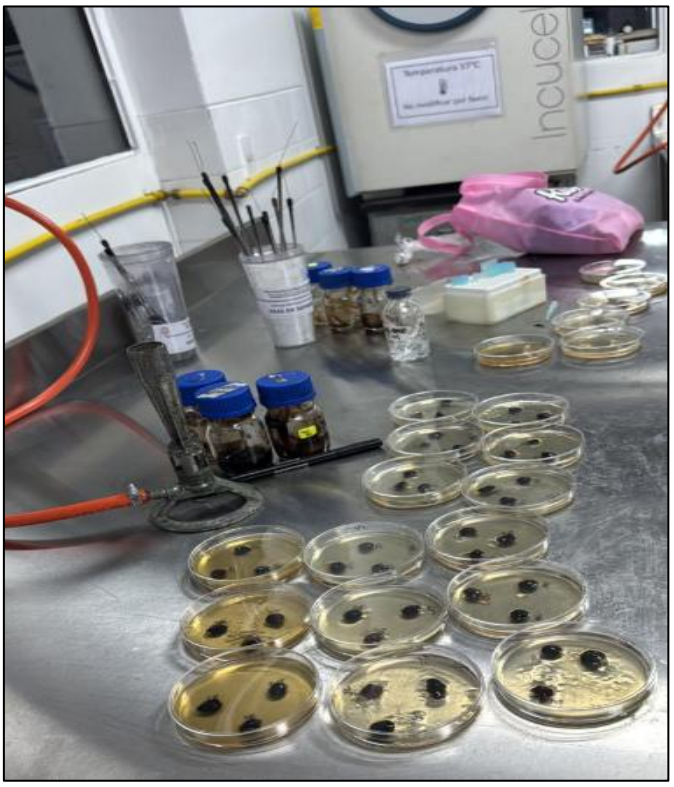
ANEXO N°16 Gel del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav



ANEXO N°17 Prueba de extensibilidad del gel del extracto *Buddleja incana* Ruiz & Pav antes de incubar



ANEXO N°18 Ensayo de difusión en agar del gel del extracto *Buddleja incana* Ruiz & Pav antes de incubar



ANEXO N°19 Análisis estadístico de los resultados de actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav

Estadísticos descriptivos: 50 mg/ml Ext; 100 mg/ml Ext; 150 mg/ml Ext

E. Coli

Estadísticas

Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
50 mg/ml Ext	3	0	12.000	0.000000	0.000000	12.000	12.000	12.000	12.000	12.000
100 mg/ml Ext	3	0	13.000	0.000000	0.000000	13.000	13.000	13.000	13.000	13.000
150 mg/ml Ext	3	0	14.000	0.000000	0.000000	14.000	14.000	14.000	14.000	14.000

Estadísticos descriptivos: 50 mg/ml Ext; 100 mg/ml Ext; 150 mg/ml Ext

S. Aereus

Estadísticas

Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
50 mg/ml Ext	3	0	12.000	0.000000	0.000000	12.000	12.000	12.000	12.000	12.000
100 mg/ml Ext	3	0	13.000	0.000000	0.000000	13.000	13.000	13.000	13.000	13.000
150 mg/ml Ext	3	0	14.000	0.000000	0.000000	14.000	14.000	14.000	14.000	14.000

Estadísticos descriptivos: 50 mg/ml Ext; 100 mg/ml Ext; 150 mg/ml Ext

B. Subtillis

Estadísticas

Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
50 mg/ml Ext	3	0	12.667	0.333	0.577	12.000	12.000	13.000	13.000	13.000
100 mg/ml Ext	3	0	13.667	0.333	0.577	13.000	13.000	14.000	14.000	14.000
150 mg/ml Ext	3	0	15.000	0.577	1.000	14.000	14.000	15.000	16.000	16.000

Estadísticos descriptivos: 50 mg/ml Ext; 100 mg/ml Ext; 150 mg/ml Ext

P. Aeruginosa

Estadísticas

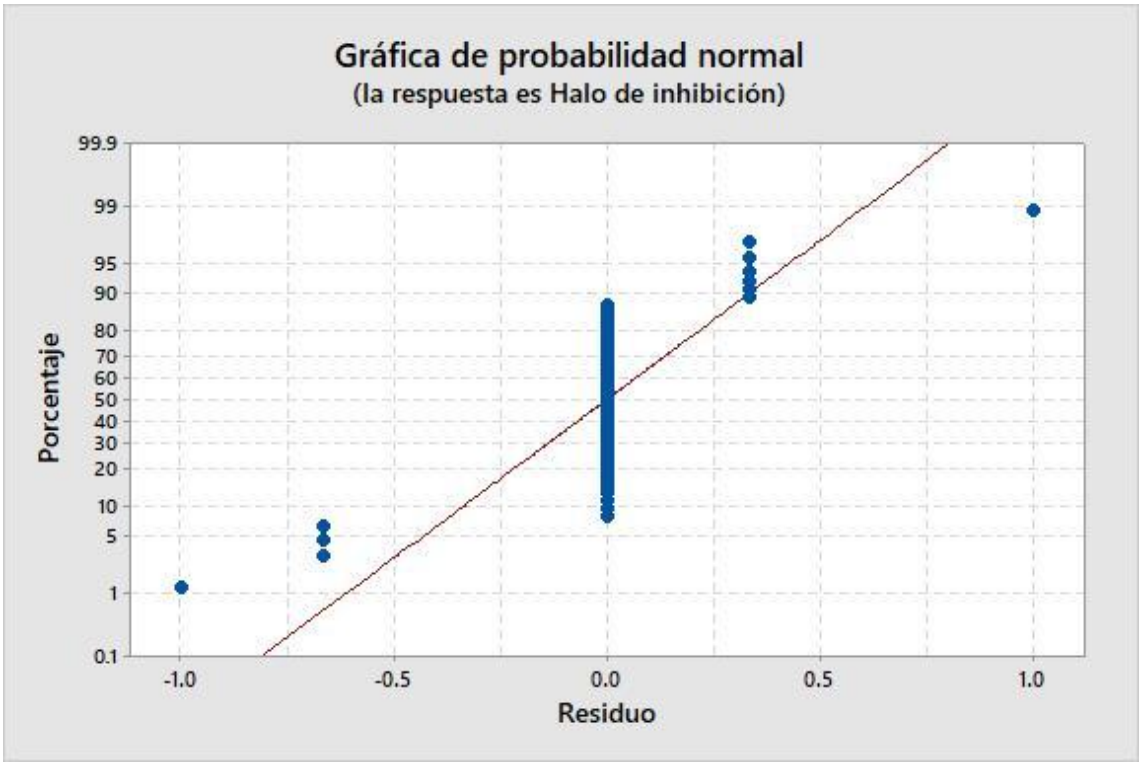
Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
50 mg/ml Ext	3	0	11.667	0.333	0.577	11.000	11.000	12.000	12.000	12.000
100 mg/ml Ext	3	0	13.000	0.000000	0.000000	13.000	13.000	13.000	13.000	13.000
150 mg/ml Ext	3	0	14.000	0.000000	0.000000	14.000	14.000	14.000	14.000	14.000

Estadísticos descriptivos: 50 mg/ml Ext; 100 mg/ml Ext; 150 mg/ml Ext

C. Albicans

Estadísticas

Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
50 mg/ml Ext	3	0	12.667	0.333	0.577	12.000	12.000	13.000	13.000	13.000
100 mg/ml Ext	3	0	13.333	0.667	1.155	12.000	12.000	14.000	14.000	14.000
150 mg/ml Ext	3	0	14.333	0.882	1.528	13.000	13.000	14.000	16.000	16.000



Prueba de normalidad de residuos bacterias, ANOVA

Prueba de igualdad de varianzas: Halo de inhibición vs. ... ntración Ext

Método

Hipótesis nula	Todas las varianzas son iguales
Hipótesis alterna	Por lo menos una varianza es diferente
Nivel de significancia	α = 0.05

Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

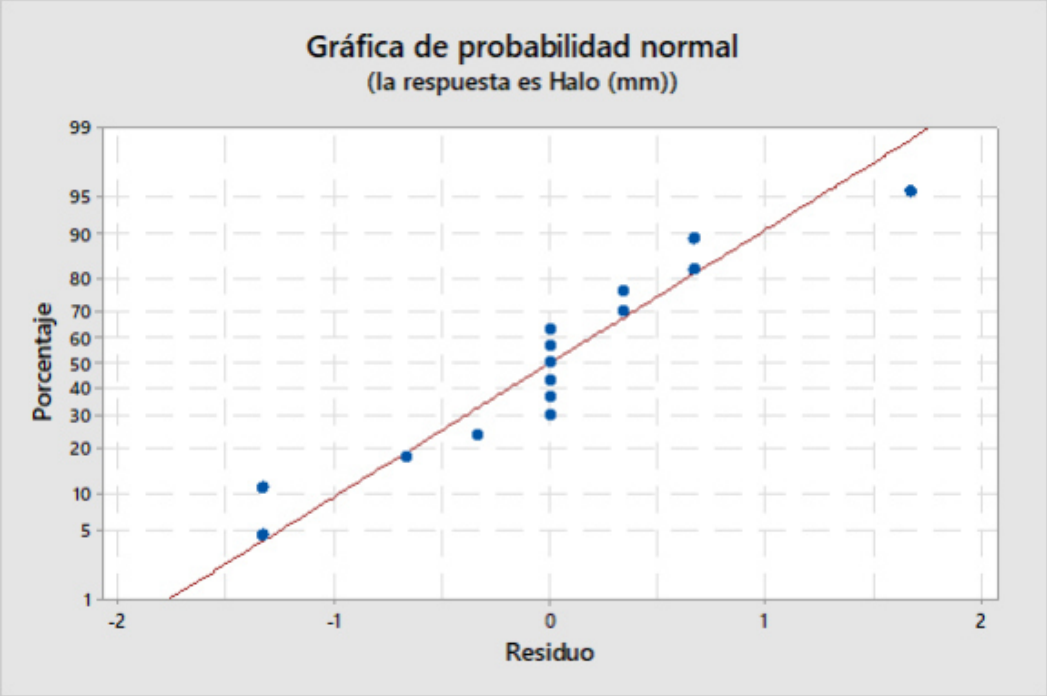
Bacteria	Concentración Ext	N	Desv.Est.	IC
B. Subtillis	100 mg/ml	3	0.57735	(0.0022088; 901.33)
B. Subtillis	150 mg/ml	3	1.00000	(0.0038258; 1561.15)
B. Subtillis	50 mg/ml	3	0.57735	(0.0022088; 901.33)
B. Subtillis	Ciprofloxacino	3	0.00000	(*; *)
B. Subtillis	DMSO	3	0.00000	(*; *)
E. Coli	100 mg/ml	3	0.00000	(*; *)
E. Coli	150 mg/ml	3	0.00000	(*; *)
E. Coli	50 mg/ml	3	0.00000	(*; *)
E. Coli	Ciprofloxacino	3	0.00000	(*; *)
E. Coli	DMSO	3	0.00000	(*; *)
P. Aeruginosa	100 mg/ml	3	0.00000	(*; *)
P. Aeruginosa	150 mg/ml	3	0.00000	(*; *)
P. Aeruginosa	50 mg/ml	3	0.57735	(0.0022088; 901.33)
P. Aeruginosa	Ciprofloxacino	3	0.00000	(*; *)
P. Aeruginosa	DMSO	3	0.00000	(*; *)
S. Aureus	100 mg/ml	3	0.00000	(*; *)
S. Aureus	150 mg/ml	3	0.00000	(*; *)
S. Aureus	50 mg/ml	3	0.00000	(*; *)
S. Aureus	Ciprofloxacino	3	0.00000	(*; *)
S. Aureus	DMSO	3	0.00000	(*; *)

Nivel de confianza individual = 98.75%

Pruebas

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	0.853
Levene	1.51	0.133

Prueba de igualdad de varianzas bacterias



Prueba de normalidad de residuos levadura, ANOVA

Prueba de igualdad de varianzas: Halo (mm) vs. Concentración

Método

Hipótesis nula	Todas las varianzas son iguales
Hipótesis alterna	Por lo menos una varianza es diferente
Nivel de significancia	α = 0.05

Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

Concentración	N	Desv.Est.	IC
100 mg/ml	3	1.15470	(0.0151757; 434.935)
150 mg/ml	3	1.52753	(0.0200755; 575.365)
50 mg/ml	3	0.57735	(0.0075878; 217.468)
DMSO	3	0.00000	(*; *)
Fluconazol	3	0.00000	(*; *)

Nivel de confianza individual = 98.3333%

Pruebas

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	0.412
Levene	1.06	0.424

Prueba de igualdad de varianzas levadura

ANEXO N°20 Análisis estadístico de los resultados de actividad antimicrobiana mediante el método de microdilución colorimétrica del extracto de *Buddleja incana* Ruiz & Pav

Estadísticos descriptivos: S.A; B.S; E.C; P.A; Ciprofloxacino

Estadísticas

Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	CoefVar	Mínimo	Q1
S.A	4	0	500.00	0.000000	0.000000	0.00	500.00	500.00
B.S	4	0	2000.0	0.000000	0.000000	0.00	2000.0	2000.0
E.C	4	0	0.000000	0.000000	0.000000	*	0.000000	0.000000
P.A	4	0	0.000000	0.000000	0.000000	*	0.000000	0.000000
Ciprofloxacino	4	0	0.25000	0.000000	0.000000	0.00	0.25000	0.25000

Variable	Mediana	Q3	Máximo
S.A	500.00	500.00	500.00
B.S	2000.0	2000.0	2000.0
E.C	0.000000	0.000000	0.000000
P.A	0.000000	0.000000	0.000000
Ciprofloxacino	0.25000	0.25000	0.25000

Estadísticos descriptivos: C.A; Fluconazol

Estadísticas

Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	CoefVar	Mínimo	Q1	Mediana	Q3
C.A	3	0	500.00	0.000000	0.000000	0.00	500.00	500.00	500.00	500.00
Fluconazol	3	0	2.0000	0.000000	0.000000	0.00	2.0000	2.0000	2.0000	2.0000

Variable	Máximo
C.A	500.00
Fluconazol	2.0000

ANEXO N°21 Análisis estadístico de los resultados de actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar del gel de *Buddleja incana* Ruiz & Pav

Estadísticos descriptivos: 1% Gel; 3% Gel; 5% Gel

E. Coli

Estadísticas

Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
1% Gel	3	0	16.667	0.333	0.577	16.000	16.000	17.000	17.000	17.000
3% Gel	3	0	17.500	0.289	0.500	17.000	17.000	17.500	18.000	18.000
5% Gel	3	0	19.000	0.000000	0.000000	19.000	19.000	19.000	19.000	19.000

Estadísticos descriptivos: 1% Gel; 3% Gel; 5% Gel

P. Aeruginosa

Estadísticas

Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
1% Gel	3	0	16.667	0.333	0.577	16.000	16.000	17.000	17.000	17.000
3% Gel	3	0	17.667	0.333	0.577	17.000	17.000	18.000	18.000	18.000
5% Gel	3	0	19.000	0.000000	0.000000	19.000	19.000	19.000	19.000	19.000

Estadísticos descriptivos: 1% Gel; 3% Gel; 5% Gel

B. Subtillis

Estadísticas

Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
1% Gel	3	0	16.000	0.000000	0.000000	16.000	16.000	16.000	16.000	16.000
3% Gel	3	0	17.667	0.333	0.577	17.000	17.000	18.000	18.000	18.000
5% Gel	3	0	18.500	0.500	0.866	17.500	17.500	19.000	19.000	19.000

Estadísticos descriptivos: 1% Gel; 3% Gel; 5% Gel

S. Aereus

Estadísticas

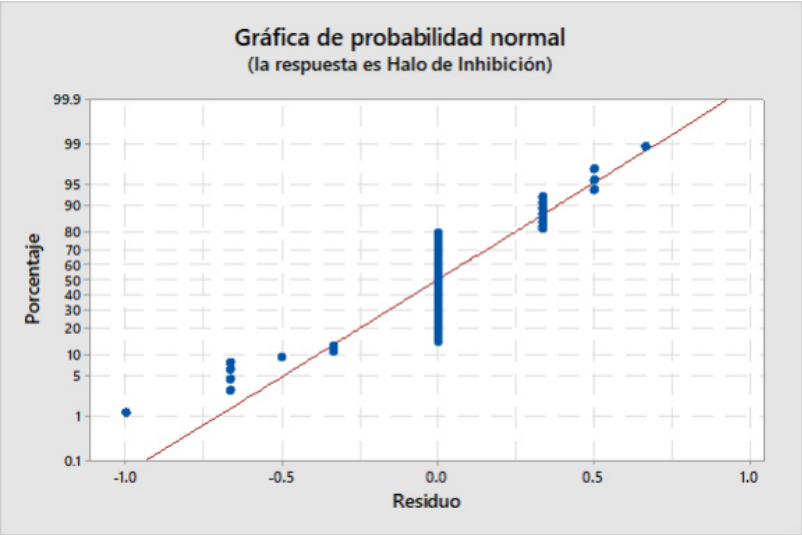
Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
1% Gel	3	0	18.000	0.000000	0.000000	18.000	18.000	18.000	18.000	18.000
3% Gel	3	0	20.000	0.000000	0.000000	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000
5% Gel	3	0	21.333	0.333	0.577	21.000	21.000	21.000	22.000	22.000

Estadísticos descriptivos: 1% Gel; 3% Gel; 5% Gel

C. Albicans

Estadísticas

Variable	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
1% Gel	3	0	19.333	0.333	0.577	19.000	19.000	19.000	20.000	20.000
3% Gel	3	0	20.667	0.333	0.577	20.000	20.000	21.000	21.000	21.000
5% Gel	3	0	22.333	0.333	0.577	22.000	22.000	22.000	23.000	23.000



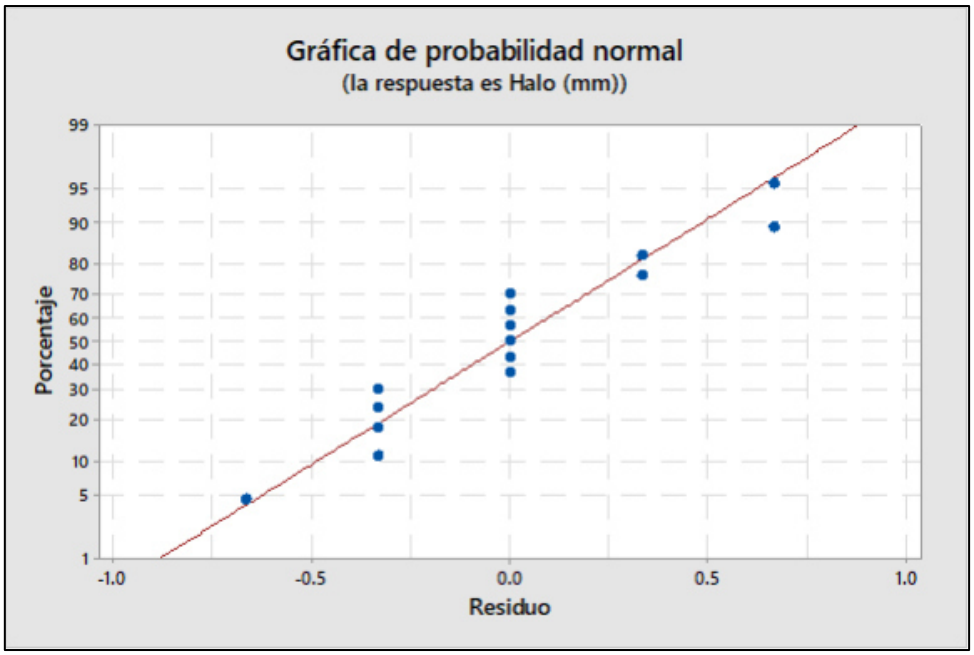
Prueba de normalidad de residuos bacterias, ANOVA

Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

Bacterias	Concentración	N	Desv.Est.	IC
B. Subtillis	1 %	3	0.000000	(*; *)
B. Subtillis	3 %	3	0.577350	(0.0000227; 141848)
B. Subtillis	5 %	3	0.866025	(0.0000341; 212772)
B. Subtillis	Ciprofloxacino	3	0.000000	(*; *)
B. Subtillis	DMSO	3	0.000000	(*; *)
E. Coli	1 %	3	0.577350	(0.0000227; 141848)
E. Coli	3 %	3	0.500000	(0.0000197; 122844)
E. Coli	5 %	3	0.000000	(*; *)
E. Coli	Ciprofloxacino	3	0.000000	(*; *)
E. Coli	DMSO	3	0.000000	(*; *)
P. Aeruginosa	1 %	3	0.577350	(0.0000227; 141848)
P. Aeruginosa	3 %	3	0.577350	(0.0000227; 141848)
P. Aeruginosa	5 %	3	0.000000	(*; *)
P. Aeruginosa	Ciprofloxacino	3	0.000000	(*; *)
P. Aeruginosa	DMSO	3	0.000000	(*; *)
S. Aureus	1 %	3	0.000000	(*; *)
S. Aureus	3 %	3	0.000000	(*; *)
S. Aureus	5 %	3	0.577350	(0.0000227; 141848)
S. Aureus	Ciprofloxacino	3	0.000000	(*; *)
S. Aureus	DMSO	3	0.000000	(*; *)

Nivel de confianza individual = 99.2857%

Prueba de igualdad de varianzas bacterias, ANOVA



Prueba de normalidad de residuos levadura, ANOVA

Prueba de igualdad de varianzas: Halo (mm) vs. Concentración.

Método

Hipótesis nula	Todas las varianzas son iguales
Hipótesis alterna	Por lo menos una varianza es diferente
Nivel de significancia	α = 0.05

Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

Concentración.	N	Desv.Est.	IC
1 %	3	0.577350	(0.0075878; 217.468)
3 %	3	0.577350	(0.0075878; 217.468)
5 %	3	0.577350	(0.0075878; 217.468)
DMSO	3	0.000000	(*; *)
Fluconazol	3	0.000000	(*; *)

Nivel de confianza individual = 98.3333%

Pruebas

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	1.000
Levene	0.50	0.737

Prueba de igualdad de varianzas: Halo (mm) vs. Concentración.

Prueba de igualdad de varianzas levadura, ANOVA