



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA

**Actividad antibacteriana de los extractos
hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de
Schkuhria pinnata (Lanm.) Kuntze ex Thell
“canchalagua” frente a *Propionibacterium acnes***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

Presentado por:

Br. Kevin Manuel E. Purizaca Meléndez

Br. Laura Isabel Condori Antialon

Asesor:

Mg. Q. F. Luis Miguel Félix Veliz

Lima - Perú

2018

DEDICATORIA

*Esta tesis se la dedico a mi familia, la que ha sido,
es y siempre será el pilar de mi vida
y sin ellos no hubiese llegado hasta aquí.*

*A los queridos profesores, quienes me inculcaron
conocimientos y competencias para cumplir con la ardua
labor de ser un gran Químico Farmacéutico.*

*A mis compañeros, con quienes he compartido
experiencias y lo aprendido en los salones de clase.*

*A mis amigos y cada persona que ha influenciado
positivamente en mi vida y me acompañan con voluntad.*

Kevin

DEDICATORIA

*A Dios por brindarme la fuerza para
desarrollarme como ser humano.*

*A mis padres, por su apoyo, formación, amor y
por ser mi mayor inspiración.*

*A mis hermanos por su enseñanza, consejos y
motivación, son ellos mi mejor ejemplo.*

*A mis maestros, por brindarme sus
conocimientos y experiencias que incentivaron
mi formación profesional.*

*A mis amigos por brindarme su amistad sincera,
gratos consejos y apoyo desinteresado.*

*A mi compañero de vida Frank por su inmenso
apoyo, confianza, inspiración, por ser mi fortaleza en
cada momento de mi vida.*

Laura

AGRADECIMIENTOS

A nuestra alma mater Universidad Norbert Wiener, nuestro segundo hogar, donde nos formamos profesionalmente con ética y moral.

A nuestros familiares, por su gran apoyo, comprensión y amor a lo largo de nuestra vida y carrera profesional.

A nuestro querido asesor: Dr. Luis Miguel Félix Veliz quien fue nuestro guía, brindándonos sus valiosos conocimientos con orientación y sabiduría en la elaboración del presente trabajo de investigación.

A los miembros del jurado calificador, por sus valiosas recomendaciones y por el tiempo brindado durante la realización de esta tesis.

Un sincero agradecimiento, por el apoyo y la colaboración en la realización del presente trabajo, a la Dra. Juana Chávez Flores, Dra. Teresa Gallardo Jugo, Dra. Marilú Jaramillo Briceño, por brindarnos datos y consejos para desarrollar el presente trabajo.

Un agradecimiento muy especial a nuestro gran amigo y colega Wenceslao Andrés García Gutiérrez por su apoyo en la realización de nuestra tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Resumen	
SUMMARY	
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Planteamiento del Problema	2
1.2. Formulación del Problema	2
1.3. Justificación e importancia del estudio	3
1.4. Objetivo de la investigación	3
1.4.1. Objetivo General	3
1.4.2. Objetivos específicos	3
1.5. Variables	4
1.5.1. Variable independiente	4
1.5.2. Variable dependiente	4
1.6. Hipótesis	4
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes internacionales	5
2.2. Antecedentes nacionales	7
2.3. Bases teóricas	9
2.3.1. Características de la familia <i>Asteraceae</i> (asteráceas)	9
2.3.2. Género <i>Schkuhria</i>	9
2.3.3. Especie vegetal <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell	10
2.3.4. Nombre común, vulgar, vernacular, trivial o popular	10
2.3.5. Descripción botánica y taxonómica	10
2.3.6. Hábitat y distribución	12
2.3.7. Propiedades terapéuticas	12
2.3.8. Composición química	12
2.4. La Piel	13
2.4.1. Estructura de la Piel	13
2.4.2. Funciones de la Piel	14
2.4.3. Microbiota de la piel humana	15
2.5. Generalidades del género <i>Propionibacterium</i>	15
2.5.1. <i>Propionibacterium acnes</i>	15
2.6. El acné vulgaris	16
2.6.1. Código CIE-10	16
2.6.2. Epidemiología	17
2.6.3. Factores de riesgo	17
2.6.4. Patogénesis	17
2.6.5. Elementos diagnósticos	17

2.6.6. Tratamiento	18
III. PARTE EXPERIMENTAL	20
3.1. Materiales utilizados	20
3.1.1. Material biológico o especie vegetal	20
3.1.2. Material Microbiológico	20
3.1.3. Material químico	20
3.1.4. Materiales biomédicos	21
3.1.5. Materiales de Laboratorio	21
3.1.6. Equipos de Laboratorio	22
3.2. Método	22
3.2.1. Tipo de investigación	22
3.2.2. Población y/o muestra	22
3.3. Metodología y procedimiento	22
3.3.1. Recolección y transporte del material botánico	22
3.3.2. Preparación de los extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell	23
3.3.2.1. Desecación	23
3.3.2.2. Maceración	23
3.3.2.3. Filtración y secado	23
3.3.3. Prueba de Solubilidad	23
3.4. Análisis fitoquímico cualitativo	24
3.5. Estudio microbiológico	25
3.5.1. Preparación de las cepas y medios de cultivo	25
3.5.1.1. Obtención de la cepa <i>Propionibacterium acnes</i> ATCC® 11827 e insumos	25
3.5.1.2. Activación de la cepa <i>Propionibacterium acnes</i> ATCC® 11827	26
3.5.1.3. Reconstitución de la cepa <i>Propionibacterium acnes</i> ATCC® 11827	26
3.5.2. Prueba de sensibilidad antibiótica de <i>Propionibacterium acnes</i> con extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell	26
3.5.3. Prueba de sensibilidad antibiótica de <i>Propionibacterium acnes</i> con discos de antibióticos y extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell	26
IV. RESULTADOS	30
V. DISCUSIÓN	39
VI. CONCLUSIONES	42
VII. RECOMENDACIONES	43

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

44

ANEXOS

51

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N° 1. Especie vegetal <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell	12
Figura N° 2. Imagen tridimensional sencilla de la piel	14
Figura N° 3. Estructura de la piel	14
Figura N° 4. Acné vulgar: comedones	
Figura N° 5. Secuelas de acné	
Figura N° 6. Procedimientos del Análisis Fitoquímico Cualitativo, prueba de solubilidad y estudio Microbiológico de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell	27
Figura N° 7. Estudio Microbiológico: Prueba de sensibilidad antibiótica de <i>Propionibacterium acnes</i> con extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell.	28
Figura N° 8. Prueba de sensibilidad antibiótica de <i>Propionibacterium acnes</i> con discos de antibióticos y extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell.	29
Figura N° 9. Placas con los resultados de los halos inhibitorios de <i>Propionibacterium acnes</i> con discos impregnados de muestras hidroalcohólicas.	32
Figura N° 10. Representación gráfica de los halos de inhibición de <i>Propionibacterium acnes</i> con las muestras de los extractos de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell	33
Figura N° 11. Resultados de los halos de inhibición de <i>Propionibacterium acnes</i> con las muestras vegetales y los discos de antibióticos	34
Figura N° 12 Representación gráfica de los halos de inhibición promedio de <i>Propionibacterium acnes</i> por grupos de las muestras de extractos de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell y los discos de antibióticos.	36
Figura N° 13. Representación gráfica de los halos de inhibición de <i>Propionibacterium acnes</i> con el extracto del Tallo de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell y los discos de antibióticos (Grupo A)	
Figura N° 14. Representación gráfica de los halos de inhibición de <i>Propionibacterium acnes</i> con el extracto de la Raíz de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell y los discos de antibióticos (Grupo B)	37

- Figura N°15.** Representación gráfica de los halos de inhibición de *Propionibacterium acnes* con el extracto de las Hojas de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell y los discos de antibióticos (Grupo C) 38
- Figura N°16.** Representación gráfica de los halos de inhibición de *Propionibacterium acnes* con el extracto de las Flores de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell y los discos de antibióticos (Grupo D) 38

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N° 1. Clasificación Taxonómica de la especie <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell según el sistema de clasificación de Cronquist (1988)	11
Tabla N° 2. Tratamiento algorítmico para el tratamiento de acné vulgaris en adolescentes y jóvenes adultos.	19
Tabla N° 3. Prueba de Solubilidad de extractos hidroalcohólicos de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell (3 mg/1 mL EtOH).	30
Tabla N° 4. Análisis fitoquímico de extractos hidroalcohólicos de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell (10 mg/3 ml EtOH).	31
Tabla N° 5. Prueba de sensibilidad de <i>Propionibacterium acnes</i> con extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell.	32
Tabla N° 6. Promedio de Resultados de halos de inhibición por Grupo.	34
Tabla N° 7. Prueba de sensibilidad antibiótica de <i>Propionibacterium acnes</i> con discos de antibióticos y extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell.	35

ABREVIATURAS

ATCC American Types Culture Collection

ccc Caldo cerebro corazón

HPLC Cromatografía Líquida de Alta Performance

IR Infrarrojo

UV Ultravioleta

INS Instituto Nacional del Perú

mm Milímetros

MSSA Methicillin-sensitive Staphylococcus aureus

MTCC Microbial Type Culture Collection

m.s.n.m Metros sobre el nivel del mar

NaCl Cloruro de sodio.

NCTC: National Collection of type Culture

°C Grados centígrados.

g Gramos

Q.P. Químicamente Puro

UUC Ureaplasma Urealyticum Cultures

RESUMEN

La especie vegetal *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell “Canchalagua” procedente de la ciudad de Ayacucho fue obtenida en el Mercado Mayorista de “La Parada”, distrito de La Victoria – Lima; para luego ser clasificada taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se realizó la limpieza y secado de la muestra en el Centro de Investigación de la Universidad Norbert Wiener donde se separaron las partes de la planta: Tallo, Raíz, Hojas y Flores; se prepararon los extractos hidroalcohólicos de cada una y se identificaron los fitoconstituyentes presentes como: flavonoides, azúcares reductores, compuestos fenólicos y carbohidratos. Para la prueba microbiológica se trabajó con el método de Difusión en Disco, usando el medio de cultivo Agar sangre y la cepa *Propionibacterium acnes* (ATCC® 11827), para lo cual se usó antibióticos estándar Q.P: Doxiciclina, Levofloxacino, Azitromicina y Penicilina. Se adicionó discos impregnados con 10 µL de los extractos hidroalcohólicos y fueron comparados con los discos de antibióticos estándar en las placas, encontrándose que el extracto hidroalcohólico de las hojas presentó mayor diámetro del halo de inhibición.

Palabras clave: Acné Vulgaris, Fitoconstituyentes, *Schkuhria pinnata*, *Propionibacterium acnes*, Actividad antibacteriana.

SUMMARY

The plant species *Schkuhria pinnata* (Lam.) Kuntze ex Thell "Canchalagua" from the city of Ayacucho was obtained in the Wholesale Market of "La Parada", district of La Victoria - Lima; to then be classified taxonomically in the Natural History Museum of the National University of San Marcos. The sample was cleaned and dried in the Research Center of the Norbert Wiener University where the plant parts were separated: Stem, Root, Leaves and Flowers; the hydroalcoholic extracts of each one were prepared and the phytoconstituents present were identified as: flavonoids, reducing sugars, phenolic compounds and carbohydrates. For the microbiological test, the disc diffusion method was used, using the blood agar culture medium and the *Propionibacterium acnes* strain (ATCC® 11827), for which standard Q.P antibiotics were used: Doxycycline, Levofloxacin, Azithromycin and Penicillin. Disks impregnated with 10 µL of the hydroalcoholic extracts were added and compared with the plates of standard antibiotics in the plates, finding that the hydroalcoholic extract of the leaves had a greater diameter of the inhibition halo.

Key words: Acne Vulgaris, Phytoconstituents, *Schkuhria pinnata*, *Propionibacterium acnes*, Antibacterial activity.

I. INTRODUCCIÓN

Nuestro país se caracteriza por su gran biodiversidad vegetal y el uso de una gran variedad de plantas por las comunidades rurales e indígenas para el tratamiento de diversas enfermedades. Desde tiempos ancestrales el uso de las plantas medicinales ha sido el principal medio de curación para los pobladores, quienes las usan con fines terapéuticos basados en el conocimiento empírico de sus propiedades, muchas de estas plantas carecen de estudios de investigación que sustenten sus propiedades curativas, por esto es necesario realizar un estudio de las diversas especies vegetales, para determinar los compuestos que brindan las propiedades medicinales ⁽¹⁾.

Las *Asteraceae* probablemente constituyen la familia de plantas más grande sobre la Tierra, cuya principal característica son sus inflorescencias bien definidas en capítulos o cabezuelas. En la Sierra y Centro de nuestro país se puede encontrar ejemplares de la familia *Asteraceae* las cuales poseen una variedad de especies que pueden ser estudiadas y analizadas, obteniendo resultados que podrían ser la solución para problemas de carácter medicinal. Dentro de esta familia destaca el género *Schkuhria* y dentro de este género se encuentra la especie *Schkuhria pinnata* a la cual la medicina tradicional le atribuye propiedades como diurética, depurativa, hepática, antiinflamatoria, desintoxicante utilizada en caso de diabetes, acné y como antibacteriana ⁽²⁾.

El uso de la especie *Schkuhria pinnata* en el tratamiento del acné es una de las principales propiedades, por lo tanto, se buscó comprobar la actividad antibacteriana de esta especie frente a *Propionibacterium acnes* ya que este microorganismo constituye parte de la microflora bacteriana del folículo pilosebáceo, es considerado como uno de los principales agentes que intervienen en el proceso inflamatorio de los diversos grados de acné vulgaris ⁽³⁾.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (*Lanm.*) *Kuntze ex Thell* “canchalagua” frente a *Propionibacterium acnes* (especie que no reporta estudios previos de actividad antimicrobiana frente a dicho microorganismo), para ello se utilizó el método por Difusión en Disco, con el fin de demostrar cual es la parte de la planta con mayor actividad antibacteriana.

1.1. Planteamiento del Problema

La especie vegetal *Schkuhria pinnata* (Lanm.) es utilizada tradicionalmente desde tiempos remotos como gastroprotectora, colagoga, colerética, desintoxicante de la sangre, hepatoprotectora, diurética, contra el acné entre otros usos terapéuticos que han tenido relevancia con el paso de los años ^(4,5).

Se han realizado estudios sobre la efectividad de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) en las mencionadas actividades terapéuticas, pero uno de los principales problemas es no tener información acerca de que parte o partes de la planta presentan los metabolitos activos y/o el mecanismo por el cual realizan el efecto deseado, siendo este un motivo para que se use la planta entera para obtener la efectividad comprobada de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) en el tratamiento de estas afecciones o enfermedades ^(6,7).

El acné vulgaris o el acné común es una enfermedad inflamatoria que afecta a la piel. Aproximadamente el 85% de adolescentes y adultos jóvenes a nivel mundial lo padecen. Esta enfermedad no es mortal, pero puede causar una significativa morbilidad tanto física y psicológica producida por cicatrices permanentes, disminución de la autoestima, depresión y ansiedad, sus principales causas son hormonales y la proliferación de *Propionibacterium acnes* ⁽⁸⁾.

El uso más conocido y tradicional de esta especie vegetal es precisamente combatir el acné. A pesar de los estudios e investigaciones de las drogas comercializadas de *Schkuhria pinnata* (Lanm.), no existe un estudio preciso acerca de cuál es la droga y cuál de ellos realiza la actividad terapéutica correspondiente ^(9,10).

1.2. Formulación del Problema

¿Los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell “Canchalagua” tendrán actividad antibacteriana frente a *Propionibacterium acnes*?

1.3. Justificación e importancia del estudio

Con el estudio de las diversas partes de la planta se aportará la identificación de los diferentes fitoconstituyentes presentes y así también se logrará saber cuál es la droga o que parte de la planta tiene actividad contra el acné, lo que puede servir como referencia para futuras fórmulas terapéuticas que podrían ser utilizados en formas farmacéuticas de origen natural y accesibles para la población con bajos recursos económicos, que no pueden costear tratamientos comerciales con antibióticos tópicos u orales para el tratamiento del acné.

Se ha demostrado la efectividad antibacteriana de los metabolitos o componentes de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) frente a *Staphylococcus aureus*, una de las bacterias que están presentes en el acné vulgaris, razón por la cual es el uso terapéutico más común o conocido que se le da a esta especie vegetal ⁽⁹⁾.

El estudio se orienta a beneficiar a la población afectada por acné vulgaris. El presente trabajo realizado con *Schkuhria pinnata* (Lanm.) aportará en el conocimiento sobre su actividad antibacteriana frente a *Propionibacterium acnes*, con el fin de no solo proponer alternativas menos costosas para el tratamiento de acné; sino también, reducir el riesgo de sufrir efectos adversos o colaterales que presentan los antibióticos u otros medicamentos recetados para tratar esta enfermedad.

1.4. Objetivo de la investigación

1.4.1. Objetivo General

Determinar la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell “canchalagua” frente a *Propionibacterium acnes*.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Identificar los metabolitos presentes en los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell mediante análisis fitoquímico cualitativo.

2. Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell frente a *Propionibacterium acnes*.
3. Determinar cuál de los extractos hidroalcohólicos de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell presenta mayor actividad antibacteriana frente a *Propionibacterium acnes*.

1.5. Variables

1.5.1. Variable independiente

Extractos hidroalcohólicos

1.5.2. Variable dependiente

Actividad antibacteriana

1.6. Hipótesis

Los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell presentan actividad antibacteriana frente a *Propionibacterium acnes*.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes Internacionales

En un estudio realizado por científicos estadounidenses se realizaron pruebas con las especies más utilizadas por la población en estudio para tratar el acné: canchalagua (*Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell), hercampuri (*Gentianella alborosea* (Gilg.) Fabris) y corpus way (*Gentianella bicolor* (Wedd.) J. Pringle) las cuales se prepararon extractos con agua y etanol y se realizó un estudio microbiológico con *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (obtenidas de muestras de orina y garganta de pacientes) mediante el método de Difusión en Agar o Kirby-Bauer; las bacterias fueron activadas en Agar sangre de ovino e inoculadas en Agar Mueller-Hinton, los organismos fueron suspendidos en 10 mL de agua destilada y llevados a concentración equivalente a 0.5 de la escala de Mc Farland, cada muestra bacteriana fue hisopada a placas con Agar Mueller-Hinton y se colocaron discos de seis milímetros impregnados con los extractos acuosos y etanólicos de las especies vegetales y discos de antibiótico estándar de Amikacina. Transcurridas 24 horas se observaron halos de inhibición significativos con *Staphylococcus aureus*, dando como resultado que las muestras de Canchalagua, Hercampuri y Corpus way tienen actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, lo que podría explicar su eficacia en el tratamiento del acné ⁽⁹⁾.

Se investigó la actividad antibacteriana de la *Schkuhria pinnata* para el control de los patógenos de la mastitis (enfermedad causada por la infección del epitelio y la glándula mamaria produciendo inflamación) mediante el método de *Total Bacterial Count* (TBC) se comprobó que el extracto de la planta diluida en agua destilada y metanol (al 20%, 40%, 80% y 100%) tiene una actividad antibacteriana potencialmente eficaz contra las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*, responsables de la infección epitelial mamaria, entonces se podría considerar la especie vegetal como terapia alternativa a este tipo de enfermedades o infecciones epiteliales ⁽¹¹⁾.

Una revisión del estudio del género *Vernonia*, perteneciente a la familia *Asteraceae*, con amplio uso etnomedicinal en África y otras regiones, mediante pruebas fitoquímicas, se han detectado propiedades bioactivas propias de la

familia *Asteraceae* conteniendo metabolitos como lactonas sesquiterpénicas, terpenoides, flavonoides, taninos, esteroides y alcaloides. Las 22 de sus especies presentan actividad antibacteriana en su mayoría contra gram negativas y gram positivas, bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* (forman parte de la patogenia del acné), algunas especies inclusive con actividad antifúngica ⁽¹²⁾.

Se analizaron extractos de hojas de *Camellia sinensis* Linn, raíces y rizoma de *Glycyrrhiza glabra* Linn, y flores de *Calendula officinalis* (*Asteraceae*) para comprobar la actividad antimicrobiana *in vitro*, utilizando el método de difusión en disco. Se estudió la actividad antimicrobiana de los extractos de éter de petróleo, diclorometano y extractos metanólicos de diferentes partes de estas plantas contra bacterias causantes del acné: *Staphylococcus aureus* (MTCC 96), *Staphylococcus epidermidis* (MTCC 2639) y *Propionibacterium acnes* (MTCC 1951). Los resultados obtenidos revelaron que de los 9 extractos, el extracto metanólico de *Calendula officinalis* presentó actividad antibacteriana ocupando el segundo lugar en actividad antimicrobiana frente a *Propionibacterium acnes*, también se halló que el extracto de éter de petróleo de *Calendula officinalis* obtuvo mayor actividad antibacteriana frente a *Propionibacterium acnes* a diferencia de los otros extractos, debido a sus componentes: flavonoides, saponinas y terpenoides hallados en el estudio fitoquímico ⁽¹³⁾.

Un estudio evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos y etanólicos de pétalos de *Calendula officinalis* (*Asteraceae*) contra patógenos clínicos: *Bacillus subtilis* NCTC 10400, *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 27853, *Bacillus cereus* NCTC 7464, *Escherichia coli* (colección UUC), *Escherichia coli* resistente a la ampicilina (colección UUC), *Escherichia coli* NCTC 12900, *Escherichia coli* NCTC 25922, *Staphylococcus aureus* MSSA 25923, *Klebsiella aerogenes* NCTC 9528, *Enterococcus faecalis* NCTC 775, *Bacillus pumilis* [JEM15], *Klebsiella pneumoniae* 700603 [JEM19]; microorganismos que fueron aislados de pacientes en el Hospital de la ciudad de Belfast (BCH). Se realizó el análisis microbiológico utilizando un ensayo de difusión en disco. El extracto metanólico de *Calendula officinalis* exhibió mejor actividad antibacteriana contra la mayoría de las bacterias probadas, a diferencia del extracto etanólico.

Los resultados del ensayo por método de difusión en disco indicaron que los extractos de pétalos de *Calendula officinalis* tienen efecto antibacteriano contra bacterias Grampositivas y Gram-negativas. Además, el extracto de metanol mostró mayor inhibición contra la mayoría de las bacterias que el extracto de etanol. Sin embargo, contra *Staphylococcus aureus* MSSA 25923 y *Enterococcus faecalis* NCTC 775, el extracto de etanol mostró una mejor actividad antibacteriana con un halo de medición de (28 y 18 mm) a diferencia del extracto de metanol con (18 y 14 mm, respectivamente) ⁽¹⁴⁾.

2.2. Antecedentes nacionales

Se evaluó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. “chincho”, planta de la familia *Asteraceae*, mediante el método de Difusión en agar y se demostró el efecto del extracto etanólico frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25933 con halos de inhibición de 16, 15 y 14,5 mm a las concentraciones de 100, 50 y 10 mg/mL respectivamente; así mismo demostró actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 con halos de 14, 13,5 y 13mm ⁽¹⁵⁾.

En un estudio de investigación, los extractos etanólicos y clorofórmicos de las hojas de *Flourensia polycephala* Dillon (phauka), perteneciente a la familia *Asteraceae* demostraron actividad antibacteriana *in vitro* y se evidenció el efecto antibacteriano *in vivo* de una forma farmacéutica elaborada con el extracto que presentó mayor actividad antibacteriana *in vitro*, para lo cual se usaron hojas de *Flourensia polycephala* Dillon recolectadas en la localidad de Oropesa, Cusco. Mediante el método de disco difusión en placa, se determinó la actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, usando como patrones discos de sensibilidad neomicina y bacitracina. Para evaluar el efecto antibacteriano se utilizaron ratones albinos a los que se les produjo heridas infectadas en la piel, sobre las que se aplicaron dos presentaciones farmacéuticas, pomada y emulsión (aceite en agua) a concentraciones de 2,5% y 5%, en ambos casos, usando ungüento de neomicina y bacitracina como fármaco patrón. La forma farmacéutica con mayor efecto antibacteriano fue la emulsión al 2,5% de extracto etanólico, que produjo curación de las heridas en menor tiempo. Se determinó que ambos extractos de las hojas

de *Flourensia polycephala* Dillon presentan actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Así mismo, la emulsión aceite en agua al 2,5% de extracto etanólico presentó buen efecto antibacteriano en heridas infectadas de ratones ⁽¹⁶⁾.

En la investigación se determinó el efecto antimicrobiano de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby “Llancahuasha”; especie vegetal perteneciente a la familia *Asteraceae*, se recolectó en la zona de Chavín de Huantar, distrito de Huari, departamento de Ancash; con la cual se elaboró un gel antimicrobiano a concentraciones de 12,5 y 25 mg/mL; se evaluó su efecto antimicrobiano mediante el método de difusión en agar, utilizando para ello cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de muestra clínica hospitalaria y de la comunidad. Se encontró alcaloides, flavonoides y saponinas esteroidales y mediante análisis cromatográfico e interpretación de zonas claras de inhibición del crecimiento bacteriano se comprobó el efecto antibacterial significativo del gel a concentración de 25 mg/mL frente a *Staphylococcus aureus*, el halo de inhibición formado fue de 20 mm y con la cepa hospitalaria el halo de inhibición formado fue de 18 mm. Se concluye entonces que el gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby tiene efecto antibacteriano *in vitro* ⁽¹⁷⁾.

Se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano), *Tagetes elliptica* (chincho) y de *Tagetes minuta* (huacatay), las dos últimas especies pertenecientes a la familia *Asteraceae*, comparados con Clorhexidina al 0,12% y Colgate Plax frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 y *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, mediante el método de Difusión en Agar, Concentración mínima inhibitoria y Técnica Pour Plate (Técnica de Vertido en Placa). Por lo que se comprobó que existe actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano), *Tagetes elliptica* (chincho) comparado con Clorhexidina al 0,12% y Colgate Plax frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 y *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277; asimismo *Tagetes minuta* (huacatay) tiene efectividad con esta última cepa bacteriana ⁽¹⁸⁾.

El estudio de la actividad antimicrobiana a partir de extractos acuosos y etanólicos de *Gnaphalium vira vira* (wira wira), una planta de la familia *Asteraceae*, que

fueron diferenciados por flores, hojas, tallo y toda la planta cuya actividad antimicrobiana se realizó por el método de Difusión microbiológica en placa. Los resultados comprobaron que existió actividad antimicrobiana de los extractos acuosos y etanólicos de las hojas de *Gnaphalium vira vira* (wira wira) frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, lo que se evidenció con la formación de halos de inhibición de mayor diámetro. En el caso de los tallos, el diámetro de los halos de inhibición indica que la actividad antimicrobiana es menor comparado con las demás partes de la planta. Finalmente, los extractos de las flores, hojas y toda la planta presentan un mayor diámetro de halo, respecto del tallo, indicando que la actividad antimicrobiana es mayor en esos niveles ⁽¹⁹⁾.

2.3. Bases teóricas

2.3.1. Características de la familia *Asteraceae* (asteráceas)

Las *Asteraceae*, también conocidas como *Compositae*, representan alrededor de 1500 géneros y unas 32000 especies a nivel mundial. Abarcan desde hierbas de 1 centímetro hasta árboles de más de 30 metros. Se les puede encontrar desde regiones polares hasta los trópicos. Constituyen hasta el 10% de la flora. Son angiospermas; su nombre deriva del vocablo *aster* (*estrella*), por su inflorescencia ^(4,5,20,21).

2.3.2. Género *Schkuhria*

Schkuhria es un género de plantas fanerógamas perteneciente a la familia de las asteráceas. Comprende 41 especies descritas y solo 7 aceptadas. El género fue descrito por Albrecht Wilhelm Roth y publicado en *Catalecta Botánica* 1: 116. 1797.4. El tipo de especie es: *Schkuhria abrotanoides* Roth.

Según la base de datos en Plant List y Global Compositae, a continuación se brinda un listado de las especies del género *Schkuhria* aceptadas hasta junio de 2012, ordenadas alfabéticamente. Para cada una se indica el nombre binomial seguido del autor, abreviado según las convenciones y usos ^(22,23).

- *Schkuhria anthemoides* (Kunth) Wedd.
- *Schkuhria degenerica* (Kuntze) R.E.Fr.
- *Schkuhria multiflora* Hook. & Arn.
- ***Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell.**
- *Schkuhria schkuhrioides* (Link & Otto) Thell.
- *Schkuhria senecioides* Nees
- *Schkuhria virgata* (La Llave) DC ⁽²⁴⁾.

2.3.3. Especie vegetal *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

La especie vegetal fue identificada por el botánico y biólogo Carl Ernst Otto Kuntze, siendo publicado en *Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis* el 25 de noviembre de 1912. Luego se descubrió que Kuntze habría puesto un sinónimo del nombre de la especie que Thell dio en la página 308 de un libro con autor anónimo. Por ello el nombre lleva aparte de Lanm. O. Kuntze ex Thell. El nombre esta aceptado oficialmente de las 41 especies propuestas del género “*Schkuhria*” (22,23).

2.3.4. Nombre común, vulgar, vernacular, trivial o popular

Akech, Anisillo Cimarrón, Azureta, Cachalagua, Canchalagua, Canchalahua, Dwarf Marygold, Escoba de anisillo, escobilla, Jayajpichana, Jayak Pichana, Kanchalawa, Karatataraku Putsutiri, Khakibush, Kuti Pichaña, Mata Pulgas, Onyalo Biro, Pinnate False Threadleaf, Pinqui-Pichana, Piqui Pichana, Schkuhria, Starry Skies, Tacote, Yelow Tumbleweed (25).

2.3.5. Descripción botánica y taxonómica

Es una planta anual, erecta, ramificada por encima de la base, de 0,25 a 0,75 m. de altura. No olorosa, ni viscosa. Sin látex. Muy ramificada en los dos tercios superiores.

Tabla N°1. Clasificación Taxonómica de la especie <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell según el sistema de clasificación de Cronquist (1988)	
REINO:	Plantae
DIVISIÓN:	Magnoliophyta
CLASE:	Magnoliopsida
SUBCLASE:	Asteridae
ORDEN:	Asterales
FAMILIA:	Asteraceae
GÉNERO:	<i>Schkuhria</i>
ESPECIE:	<i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell

Raíz: Axonomorfa, robusta, subterránea y perenne.

Tallo: Rollizo, cilíndrico, o en ocasiones comprimido, estriado y lampiño.

Ramos: Con escasos pelos cortos, gruesos, pediculados y aplicados, que aumentan en número hacia los extremos de las ramificaciones, y aún más en los pedúnculos.



Hojas: Basales opuestas (frecuentemente faltan cuando la planta está desarrollada) y las superiores alternas, hasta de 4 cm de largo, pinnada o bipinnadamente divididas en segmentos filiformes, o bien, indivisas y filiformes, los segmentos de hasta 1,5 cm de largo, con numerosas glándulas hundidas pequeñas.

Inflorescencia: Floración muy abundante. Inflorescencia en racimo compuesto cimoso-corimboso flojo de hasta 5 mm de largo.

Cabezuela/Flores: Cabezuelas agrupadas, de 4 a 5 mm de alto, sus brácteas 4 ó 5, obovadas u oblanceoladas, obtusas o redondeadas en el ápice, generalmente las flores centrales son amarillas, las cabezuelas están rodeadas de unas hojitas (involucro) verdes que están coloreadas de rojo, amarillo o morado en los bordes. Las flores llegan a medir 1,5 cm.

Frutos y semillas: Aquenios tetraangulares, de 3 a 4 mm de largo y 0,7 a 1,0 mm de ancho, pubescentes en los ángulos; vilano de 8 escamas, 4 de ellas aristadas, desiguales o iguales. Los frutos son secos y no se abren.

Plántulas: Hipocótilo alargado, de hasta 63 mm; epicótilo de hasta 24 mm; hojas de 6 a 10 mm de largo y de 4,5 a 8 mm de ancho, pecíolo de 2 a 6 mm de largo (6,9).

<i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell	Flores frescas de "Canchalagua"
	
<p>Figura N°1. Especie vegetal <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell Fuente: Rodas ⁽⁸⁾</p>	

2.3.6. Hábitat y distribución

De origen desconocido, habita en clima templado de 1 875 msnm a más. Está asociada a la agricultura de riego y de temporal, así como a matorrales xerófilos y pastizales y florece de junio a noviembre. Esta especie no es propia de nuestra flora, siendo así de amplia distribución geográfica en países de continentes como América y África. En América se pueden encontrar desde Estados Unidos de Norteamérica y México, en Sudamérica forma parte de la flora de Perú, Ecuador, Bolivia, Argentina y Paraguay ^(4,5,6). “Canchalagua” *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell es una hierba pequeña que crece en nuestro territorio distribuida en los valles y laderas de sierra entre 2000 y 3000 msnm en las serranías de Ayacucho, Ancash y Piura, principalmente ^(5,6,7).

2.3.7. Propiedades terapéuticas

En la Medicina tradicional de países como México, Ecuador, Perú y Argentina *S. pinnata* (Lanm.) es usada para el tratamiento de diversas afecciones de la salud como diurética, depurativa, emenagogo, diaforético, laxante ligero, febrífuga, adelgazante, antidiabética, antiinflamatorio, antibiótico, regulador hormonal y de grasas, tratamiento de problemas hepáticos y alérgicos, se le atribuye actividad colagoga, además es usado como insecticida doméstico ^(2,5).

Es usado también para tratar enfermedades como pulmonía, pleuresía, estimulante, digestiones difíciles, dolor estomacal, estimulante del apetito y de la función biliar, fatiga, falta de ánimo y para la caída de cabello o calvicie prematura.

Además, su empleo para tratar afecciones de la piel como el acné, dermatitis, infecciones urinarias, antimalárico, antimicrobiano y antioxidante están garantizados por diversos estudios de investigación farmacológica ^(6,8).

2.3.8. Composición química

Se ha reportado el aislamiento de compuestos bioactivos en especies pertenecientes a la familia *Asteraceae*. La investigación química de las partes aéreas de *Schkuhria pinnata* var *wislizeni* (*Asteraceae*) permitió la caracterización de lactonas sesquiterpénicas flavonoides, y acil fenil propanoides ^(21,26).

En relación con los compuestos químicos acerca de la especie se caracterizaron metabolitos como: Alcaloides, Flavonoides, Compuestos fenólicos, Taninos,

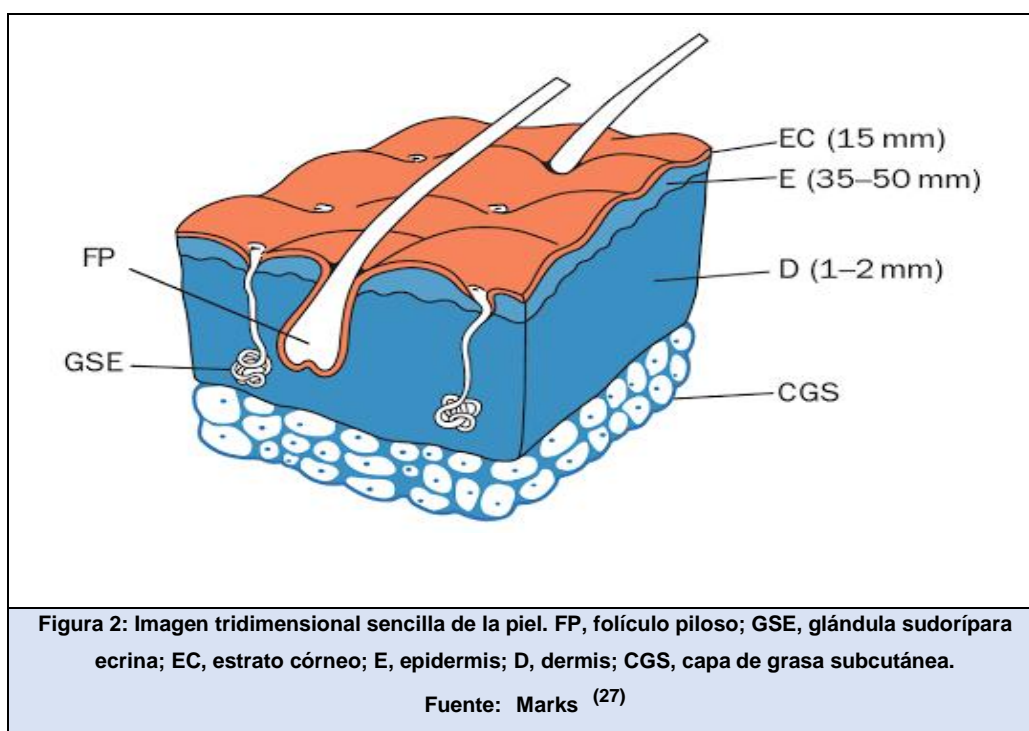
Triterpenoides y esteroides, Azúcares reductores, Lactonas, Desoxiazúcares, Núcleo esteroidal. El estudio fitoquímico del extracto etanólico al 96% de toda la planta determinó que posee una mayor proporción de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos. El efecto diurético se puede atribuir a la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos ^(7,9).

Según un estudio realizado, se reportó de *Schkuhria pinnata* (Lam.) O. Kuntze. var. *pinnata*, el aislamiento de dos flavonoides, caracterizando a uno de ellos como el 5, 7,3'; 4' - tetrahidroxi-6-metoxiflavonol y proponiendo tentativamente al otro como 5, 7, 3', 4'- tetrahidroxi-3-metoxiflavona, además de los ya reportados--sitosterol, a-amirina, lupeol y una mezcla de hidrocarburos lineales C-27 a C-33 ⁽⁵⁾.

2.4. La piel

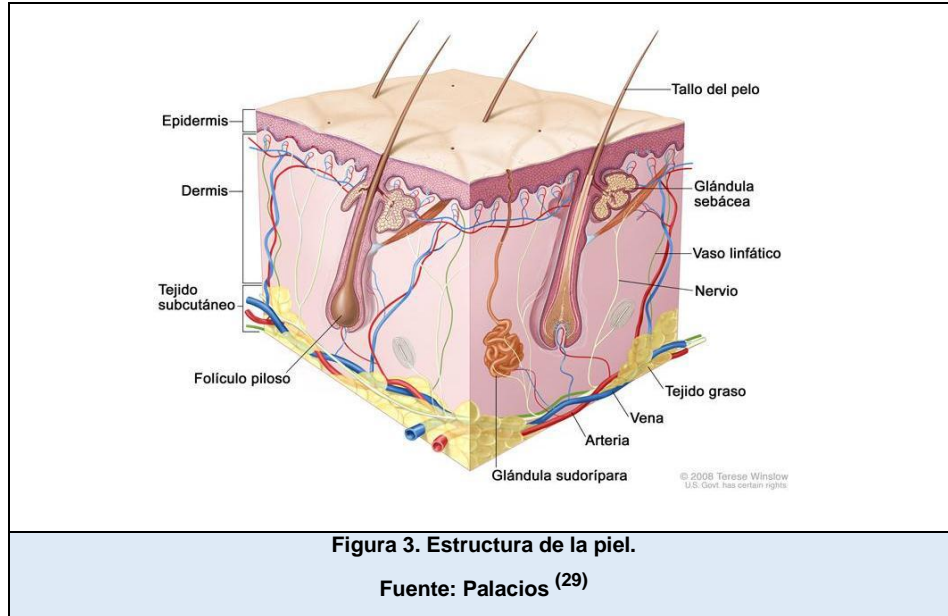
2.4.1. Estructura de la Piel

La piel es un órgano superficial (no compacto) que reviste y protege la superficie externa del organismo. La piel es una estructura de 1,7 m² que separa el ambiente externo potencialmente dañino del interior vulnerable del cuerpo. Está compuesta por varios tipos de tejidos cada uno de ellos tiene modificaciones regionales para realizar una función distinta ^(27,28).



La piel está constituida por tres capas:

1. Epidermis
2. Dermis
3. Hipodermis o tejido celular subcutáneo.



El componente principal de la epidermis son los queratinocitos las cuales representan el 80 % de las células de la epidermis y sintetizan queratina que es la principal proteína estructural de la piel. Los responsables de la pigmentación de la piel son los melanocitos que se localizan en el estrato basal y su principal función es la producción de melanina. La dermis está formada por tejido conectivo, protege la epidermis, plexos vasculares y nerviosos. Dentro de la dermis existen proteínas como: colágeno, elastina, y componentes tales como fibrilina y proteínas microfibrilares. La hipodermis está formada por tejido adiposo, es la parte más profunda de la piel y la separa de la aponeurosis o del periostio. Tiene importantes funciones como son: la termorregulación, el aislamiento, el almacenamiento de energía y la protección del daño mecánico. Las principales células de la hipodermis son los adipocitos (30,31).

2.4.2. Funciones de la piel

- Prevenir la deshidratación, dentro del cuerpo mantiene los fluidos corporales.
- Es una barrera que evita las infecciones protegiendo del ataque de virus y bacterias gracias a la acción de las células de Langerhans, que los captura y los transfiere hacia los nódulos linfáticos para su posterior eliminación segura.

- Ayuda a la percepción del frío, calor, humedad o sequedad.
- Regular la temperatura corporal gracias a la acción de las glándulas sudoríparas y los capilares sanguíneos.
- Elaborar vitamina D cuando recibe Sol.
- Recepción de estímulos externos debido a las terminaciones nerviosas.
- Definir la apariencia física de la persona ^(31,32).

2.4.3. Microbiota de la piel humana.

La piel constituye el nicho ecológico más extenso. Se calcula que de un millón de bacterias que habitan en cada centímetro cuadrado de la piel representan de 1 a 3% del peso total del cuerpo ^(32,33).

La microbiota cutánea residente está constituida por un predominio de bacterias grampositivas anaerobias facultativas, destacando las especies de los géneros *Staphylococcus*, *Micrococcus* y *Corynebacterium*, mientras que entre las bacterias anaerobias estrictas destacan especies del género *Propionibacterium* ^(31,34).

2.5. Generalidades del género *Propionibacterium*

El género *Propionibacterium* está conformado por bacterias grampositivas, inmóviles, no esporuladas, que se agrupan en empalizada o “letras chinas”. Las especies más significativas son *Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium granulosum* y *Propionibacterium avidum*. Crecen en forma óptima en anaerobiosis a 35 °C. Se encuentran en la piel, cavidad oral, tracto gastrointestinal y urogenital. En la piel, las propionibacterias habitan la superficie de las áreas sebosas y los folículos pilosebáceos contribuyendo a mantener el ecosistema cutáneo saludable al ocupar un nicho que, de otro modo, podría ser colonizado por microorganismos patógenos. *Propionibacterium acnes* y *Propionibacterium granulosum* son comúnmente aislados en áreas de la piel ricas en sebo (cabeza, pecho y espalda) con reservorio en el folículo pilosebáceo ⁽³⁰⁻³²⁾.

2.5.1. *Propionibacterium acnes*.

Propionibacterium acnes es un bacilo grampositivo, anaeróbico aerotolerante, lipofílico, no móvil, el más significativo y oportunista de la flora saprofita, especialmente a nivel de las glándulas sebáceas, sus lipasas hidrolizan los

triglicéridos hasta ácidos grasos libres y glicerol, sustancias responsables de la reacción inflamatoria que caracteriza a las lesiones del acné (31-34).

Su distribución según regiones anatómicas va a depender de varios factores, como el contenido lipídico, pH, secreción de sebo y sudor, además de su correlación con el microbioma predominante, por lo que áreas en donde haya gran cantidad de unidades pilosebáceas como el rostro, el tórax y la espalda van a ser las regiones con más concentración de *Propionibacterium acnes* (34,35).

Diversos estudios han demostrado que *Propionibacterium acnes* puede encontrarse en otras partes, como intestino, estómago, pulmones, cavidad bucal, conjuntiva, próstata y el tracto urinario (32).

Propionibacterium acnes está involucrado en infecciones de los huesos e infecciones postoperatorias especialmente prótesis de rodilla, válvulas cardíacas y conexiones ventrículo - peritoneales y diabetes (36,37).

Los folículos sebáceos pueden dilatarse por factores del hospedero acumulándose corneocitos descamados en forma anormal, dando origen al comedón que es posteriormente invadido por *Propionibacterium acnes* (36).

2.6. El acné vulgaris

Inflamación común de las glándulas pilosebáceas de la piel que se produce por obstrucción de poros (3,31). El acné vulgaris es uno de los padecimientos dermatológicos con mayor incidencia en el mundo ya que afecta hasta el 80 % de la población mundial (36). Se estima que la prevalencia de la enfermedad está entre 70 y 87% (38,39).



Figura 4. Acné vulgar: comedones.
Fuente: Vallejos (39)

2.6.1. Código CIE-10

Acné vulgar L70.0, acné conglobado L70.1, acné tropical L70.3, acné infantil L70.4, acné excoriado de la mujer joven L70.5 (40).

2.6.2. Epidemiología

Su distribución es universal, tiende a desaparecer alrededor de los 20 años, aunque en ocasiones se prolonga, se ha reportado que el 10% de los casos, el acné persiste por encima de los 25 años ^(38,41,42).

Ocurrencia: Muy común, afecta casi 85 % de la población joven.

Edad de inicio: Pubertad; puede aparecer a partir de los 25 años o en personas de mayor edad.

Género: Más grave en varones que en mujeres

Grupo Étnico: Menor incidencia en individuos de origen asiático y africano.

Aspectos genéticos: Existen antecedentes genéticos multifactoriales y predisposición familiar ^(41,43).

2.6.3. Factores de riesgo

Los fumadores activos presentan acné en 40,8% mientras que los no fumadores están afectados sólo en 23,5%. Con respecto a los alimentos; una reciente aproximación señala una asociación positiva con acné para la ingesta de leche, total o descremada ^(43,44).

2.6.4. Patogénesis

Los cuatro factores determinantes en el desarrollo de la enfermedad son:

- 1) Hiperqueratosis e hiperproliferación de las células del conducto folicular.
- 2) Aumento de la producción sebácea: La seborrea es hormono-dependiente.
- 3) Colonización y proliferación de *Propionibacterium acnes* que al hidrolizar el sebo produce factores quimiotácticos que contribuyen a las manifestaciones inflamatorias.
- 4) Respuesta inflamatoria inmune ^(44,45).

Existen otros factores que pueden producir acné tales como: corticosteroides, antidepresivos, entre otros. También algunas enfermedades sistémicas y factores externos, entre los que destacan sudoración extrema, uso de cosméticos y estrés ^(46,47,48,49).

2.6.5. Elementos diagnósticos

Se caracteriza por presentar seborrea, comedones abiertos y cerrados, pápulas eritematosas de 1-2 mm, pústulas y abscesos de diferentes tamaños ^(43,47,48).

2.6.6. Tratamiento

El objetivo del tratamiento es retirar los tapones que obstruyen los poros, reducir la producción de sebo y tratar la colonización bacteriana. El objetivo a largo plazo es la de prevenir las cicatrices ^(3,50).



Los medicamentos para el tratamiento del acné leve se dividen en tres categorías: 1) antimicrobianos como: clindamicina, eritromicina, peróxido de benzoílo; 2) retinoides, como: tretinoína y adapaleno. 3) otros, como: ácido azelaico, azufre y resorcinol ^(51,52). En el acné moderado se usan minociclina y doxiciclina ^(52,53). La isotetrinoína ha demostrado ser muy efectiva en el tratamiento del acné grave o intenso. Los esteroides y la terapia hormonal mediante estrógenos o antiandrógenos ofrecen una alternativa a la terapia con isotetrinoína ^(53,54,55,56).

Tabla N° 02. Tratamiento algorítmico para el tratamiento de acné vulgaris en adolescentes y jóvenes adultos. El doble asterisco (**) indica que las drogas puedan ser prescritas en combinación o por separado.

Tratamiento	Leve	Moderado	Severo
1ra Línea de tratamiento	Peróxido de benzoílo (PB) o retinoide tópico o Combinación de terapia tópica ** BP + Antibiótico o retinoide + PB o retinoide + PB + Antibiótico	Combinación de terapia tópica ** BP + Antibiótico o Retinoide + PB o Retinoide + PB + Antibiótico o Antibiótico oral + retinoide tópico + PB o Antibiótico oral + retinoide tópico + PB + antibiótico tópico	Antibiótico oral + Combinación de terapia tópica ** BP + Antibiótico o Retinoide + PB o Retinoide + PB + Antibiótico o Isotetrinoína oral
Tratamiento alternativo	Adicionar retinoide tópico o PB o Considerar alternativa de retinoide o Considerar Dapsona tópica	Considerar alternativa de Combinación de terapia o Considerar cambio de antibiótico oral o Adicionar combinación oral Contraceptivo o espironolactona oral (mujeres) o Considerar isotetrinoína oral	Considerar cambio de antibiótico oral o Adicionar combinación oral Contraceptivo o espironolactona oral (mujeres) o Considerar isotetrinoína oral

Fuente: Vallejos (39)

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiales utilizados

3.1.1 Material biológico o especie vegetal

Planta entera de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

3.1.2 Material microbiológico

Cepas liofilizadas de Microorganismo individual de *Propionibacterium acnes* American Types Culture Collection (ATCC) 11827 de la marca Microbiologics ® otorgado por Genlab del Perú S.A.C. conservado en el área de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener.

3.1.3 Material químico

A) Solventes:

- Acetona Merck ®
- Agua destilada Trifarma ®
- Cloroformo Merck ®
- Etanol 70° Quiarsa ®
- Etanol 96° Quiarsa ®
- Éter etílico Merck ®
- Metanol Merck ®
- N-hexano Merck ®

B) Reactivos:

- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Bertrand
- Reactivo de Bouchard
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Lieberman-Bouchard
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Molisch
- Reactivo de Popoff
- Reactivo de Shinoda
- Reactivo de Wagner
- Reactivos Fehling A y B
- Tricloruro de aluminio 1%

- Tricloruro de hierro 1%

c) Insumos:

- Base de agar de sangre 500 g de medio basal para el aislamiento de microorganismos y para prueba de hemólisis.

3.1.4 Materiales Biomédicos

- Gasas 10x10 Cotton ®
- Algodón 500 g Cotton ®
- Guantes descartables 7 ½ y 8 Alcimar Plus®
- Mascarillas nasales descartables Steel Pro ®
- Gorros descartables Novomed ®

3.1.5 Materiales de laboratorio:

- Goteros de plástico descartables
- Frascos de vidrio ámbar 1 L
- Frascos de vidrio ámbar 500 mL
- Frascos de vidrio ámbar 50 mL
- Vaso de Precipitados de vidrio Pyrex ® de 500 mL
- Vaso de Precipitados de vidrio Pyrex ® de 1000 mL
- Embudos de vidrio Pyrex ®
- Gradilla de metal
- Bagueta de Vidrio
- Espátula
- Jarra de anaerobiosis Difco ®
- Micropipeta de 1mL Boeco ®
- Papel filtro Whatman ®
- Papel Kraft
- Placas Petri descartables Boeco ®
- Trípode de metal
- Tubos de ensayo Pyrex ®
- Escala de Mac Farland
- Vernier Stanley ®
- Soporte Universal
- Pinza para soporte universal
- Pinzas de madera
- Pinza de metal

3.1.6 Equipos de laboratorio:

- Balanza analítica Ohaus ®
- Lámpara de luz UV 365 nm
- Campana extractora Erweka ®
- Cocinilla eléctrica ORL ®
- Estufa regulada a 40°C Scientific ®
- Refrigerador Mabe ®
- Autoclave Pelton ®
- Estufa Thelco ®

3.2 Método

3.2.1. Tipo de Investigación

Cuasi-Experimental, analítico, descriptivo y prospectivo.

3.2.2. Población y/o Muestra

Se recolectó en total 3 Kg aproximadamente de la especie vegetal a analizar. Se separaron cada una de las partes aéreas y la raíz, de las cuales se obtuvieron los siguientes pesos por desecación:

- A. Tallo (43,434 g)
- B. Raíz (31,993 g)
- C. Hojas (20,012 g)
- D. Flores (10,012 g)

3.3 Metodología y procedimiento

3.3.1 Recolección y transporte del material botánico

Se adquirió en total una cantidad de 3 Kg aproximadamente de *Schkuhria pinnata* (Lanm.), en el mes de setiembre, durante la época de invierno, en un puesto del mercado mayorista de “La Parada”, en el distrito de La Victoria, ciudad de Lima. La comerciante expresó que la planta proviene de la sierra alta de Ayacucho (se estima a 3000 m.s.n.m aproximadamente). La muestra fue envuelta con papel kraft, para su traslado. Tres muestras se llevaron al Museo de Historia Natural de la Universidad Mayor de San Marcos. **(Ver anexo 1).**

3.3.2 Preparación de los extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

3.3.2.1 Deseccación

Después de la recolección, el material botánico se limpió y se dejó secar a temperatura ambiente por 48 horas, después del tiempo transcurrido se llevó la muestra al Centro de Investigación de Productos Naturales de la Universidad Norbert Wiener donde se secó en la estufa a 40 °C. **(Ver anexo 2).**

3.3.2.2 Maceración

Se separó la especie vegetal en flores, hojas, tallo y raíz, se pesó cada una de ellas y se colocaron en frascos de vidrio ámbar con capacidad suficiente para cada una de ellas, los cuales fueron cerrados herméticamente para su respectiva maceración con etanol de 70 ° durante 7 días, con agitación diaria.

3.3.2.3 Filtración y secado

Al término del periodo anterior, se realizó el filtrado para obtener solo los extractos hidroalcohólicos de los respectivos órganos. Los extractos se llevaron a la estufa, para su respectivo secado a temperatura de 40 °C, donde se obtuvieron los extractos secos, los mismos que fueron conservados en frascos de vidrio ámbar.

3.3.3 Prueba de solubilidad

En una rejilla con varios tubos de ensayo se colocaron 30 mg de cada muestra y se añadieron 1 mL de solventes de diferente polaridad:

- 1) Agua destilada
- 2) Metanol
- 3) Etanol de 70°
- 4) Etanol de 96°
- 5) Acetona
- 6) Cloroformo
- 7) Éter etílico
- 8) N-hexano

3.4 Análisis fitoquímico cualitativo

Se realizaron las pruebas para determinar la presencia o ausencia de metabolitos primarios y secundarios importantes, según Lock de Ugaz ⁽⁵⁾, mediante cambios de coloración o formación de precipitados. Se utilizaron 50 mg de cada extracto hidroalcohólico seco de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) “canchalagua”. Se realizó una solución etanólica para la realización de las siguientes pruebas:

- **Azúcares o Carbohidratos:** En un tubo de ensayo con 0,5 mL de la solución etanólica se agregó 1 mL del solvente, 1 gota del reactivo Molish y 0,5 mL de H₂SO₄ Q.P. en zona. La prueba es positiva cuando inmediatamente aparece la formación de un anillo color violeta en la interfase.
- **Azúcares reductores:** En un tubo de ensayo con 0,5 mL de la solución etanólica se agregó 1 mL del Reactivo de Fehling (0,5 mL de Fehling A y 0,5 mL de Fehling B) y se llevó a Baño María por 5 minutos.

La reacción de Fehling nos indica una coloración rojo ladrillo a diferente nivel de coloración debido a la concentración de azúcar en cada solución, estableciendo que se produjo una reducción y que la prueba fue positiva.

- **Alcaloides:** Para realizar las pruebas de alcaloides se preparó una solución de agua acidulada.

En un tubo de ensayo con 0,5 mL de la solución acidulada se agregó 11 gotas del reactivo de Dragendorff. La prueba es positiva cuando se evidencia formación de un precipitado naranja rojizo.

Se repitió el mismo procedimiento con los Reactivos de Poppof, Wagner y Burchard.

- **Compuestos fenólicos:** Prueba con FeCl₃: En un tubo de ensayo con 0,5 mL de la solución etanólica se agregó 11 gotas de Tricloruro de Hierro, si hay presencia de fenoles se produce una coloración que puede variar desde verde claro hasta marrón, dependiente de la presencia del compuesto fenólico.
- **Esteroides y Triterpenos:** Reactivo de Lieberman-Burchard: En un tubo de ensayo se disolvió el extracto seco en 1 mL de cloroformo, se agregó 1 mL de anhídrido acético y 1 gota de H₂SO₄ Q.P. La prueba es positiva cuando

hay formación de colores azul, verde, rojo naranja para esteroides y desde amarillo naranja hasta pardo amarronado, positiva para triterpenos.

- **Flavonoides:** Prueba de Shinoda: En un tubo de ensayo con 0,5 mL de de la solución etanólica se agregó granallas de magnesio metálico y I gota de HCl Q.P. La prueba será positivo si se produce una coloración rosa muy débil hasta rojo escarlata, al dejar en reposo la reacción de 10 a 20 minutos. Se observa otro cambio de coloración para otros tipos de flavonoides como las chalconas, auronas e isoflavonas.
- Prueba de $AlCl_3$: En un tubo de ensayo con 0,5 mL de de la solución etanólica se agregó II gotas de Tricloruro de Aluminio y se llevó a luz ultra violeta (UV) para observar cambio de coloración. La aparición de una mancha fluorescente amarilla bajo la luz UV es indicativa de flavonoides.
- **Lactonas:** Reactivo de Baljet: En un tubo de ensayo con 0,5 mL de la solución etanólica se agregó I gota de Reactivo de Baljet, siendo positiva si se forma coloración anaranjada o rojo oscuro.

3.5 Estudio microbiológico

3.5.1 Preparación de la cepa y medios de cultivo

3.5.1.1 Obtención de la cepa *Propionibacterium acnes* ATCC® 11827 e

insumos

Se adquirió las cepas liofilizadas de Microorganismo individual de *Propionibacterium acnes* ATCC® 11827 y el medio base para el agar sangre, de la marca Microbiologics® otorgado por Genlab del Perú S.A.C. con certificado de análisis y conservados en el área de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener.

Se adquirió 100mL de sangre de ovino controlado proporcionado por el Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud, ubicado en Av. Defensores del Morro 2268, distrito de Chorrillos, el cual fue conservado en refrigeración a menos de 2 °C hasta antes de su uso.

3.5.1.2 Activación de la cepa *Propionibacterium acnes* ATCC® 11827

Se realizó la activación de las cepas según recomendación del proveedor, utilizando tubos de ensayo con medio Caldo Cerebro Corazón (CCC), los cuales

se incubaron por 12 horas. Luego se procedió al sembrado en una placa conteniendo agar sangre y se incubó en jarra de anaerobiosis a 36 °C por 48 h, luego se observó el crecimiento típico de las colonias bacterianas.

3.5.1.3 Reconstitución de la cepa *Propionibacterium acnes* ATCC® 11827

Se reconstituyó la cepa usando el medio Caldo Cerebro Corazón (CCC), se agregó suero fetal bovino y se incubó por 48 h. Se pasó a otra placa conteniendo agar sangre y se dejó incubar en jarra de anaerobiosis por 48 h.

3.5.2 Prueba de sensibilidad antibiótica de *Propionibacterium acnes* con extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

Se obtuvo una asada de la cepa en crecimiento y se diluyó en un tubo con solución salina 0,9%, creando una suspensión microbiana; que se llevó a diluciones hasta obtener una visión óptica de la escala 0,5 de Mac Farland, que corresponde a una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, se tomó 1 mL de esta dilución y se colocó en las respectivas placas Petri, luego se vertió el medio agar sangre semifundido (50 - 55 °C aproximadamente) ⁽⁵⁷⁾.

Cuando las placas se solidificaron, se colocó discos de papel filtro de 6 mm (previamente esterilizados) impregnados con una alícuota de 10 uL (30 mg de cada muestra seca en 1 mL de agua destilada) usando el método Difusión en disco o *Kirby-Bauer*, las placas se mantuvieron en condiciones anaerobias ⁽⁵³⁾.

3.5.3 Prueba de sensibilidad antibiótica de *Propionibacterium acnes* con discos de antibióticos y extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

La preparación del medio de cultivo se realizó de forma similar a la prueba de sensibilidad anterior, al solidificarse las placas se colocaron los discos con los respectivos antibióticos susceptibles a la cepa: Doxiciclina, Levofloxacino, Azitromicina y Penicilina, de forma paralela, así también se colocó los discos de papel filtro impregnados con 10 uL de cada extracto hidroalcohólico de *Schkuhria pinnata* (Lanm.). Las placas se incubaron en jarra de anaerobiosis, usando el sachet de generador de anaerobiosis a una temperatura de 36 °C por 48 h. Se repitió la técnica por triplicado para cada uno de los extractos ^(33,53).

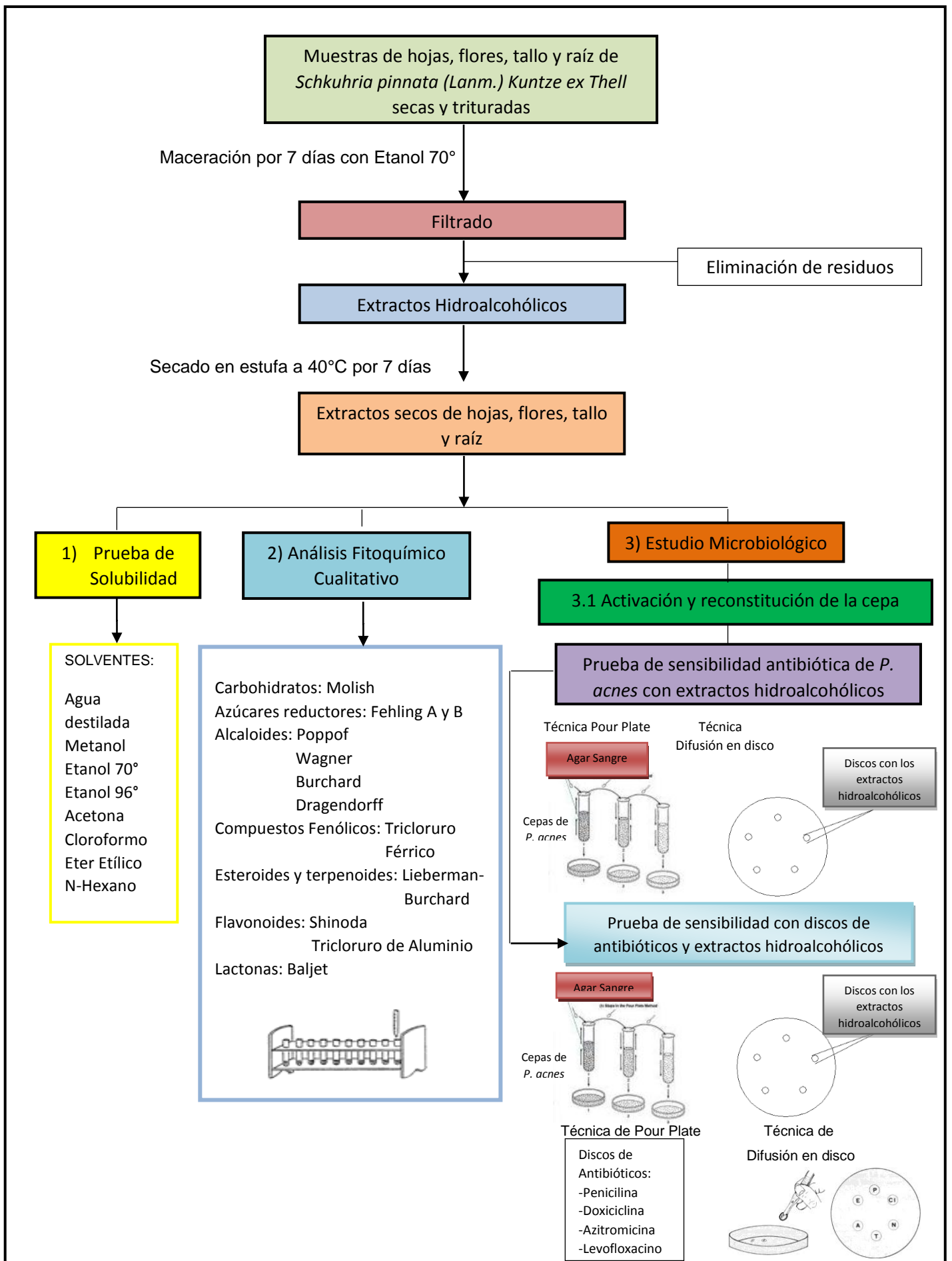


Figura N°6. Procedimientos del Análisis fitoquímico cualitativo, prueba de solubilidad y estudio microbiológico de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

3.1 Activación y reconstitución de la cepa liofilizada de *Propionibacterium acnes* (ATCC® 11827)

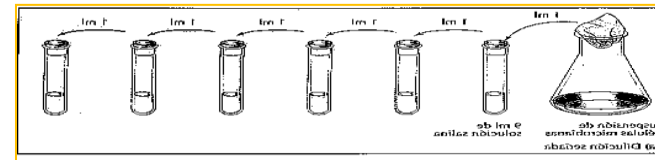


Medio: CCC

Medio: Agar Sangre

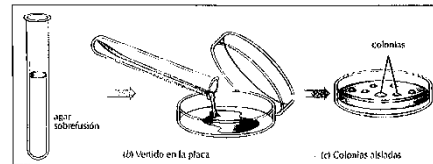
3.2 Realización de la suspensión microbiana

(Similar al tubo N° 0,5 de la escala de Mac Farland)
($1,5 \times 10^8$ UFC/mL)



Dilución con solución salina al 0,9%

3.3 Tomar 1mL de la suspensión, colocar en las placas Petri y verter el medio agar sangre



3.4 Colocar los discos impregnados con extractos hidroalcohólicos disueltos en agua destilada

Figura N°7. Estudio Microbiológico: Prueba de sensibilidad antibiótica de *Propionibacterium acnes* con extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

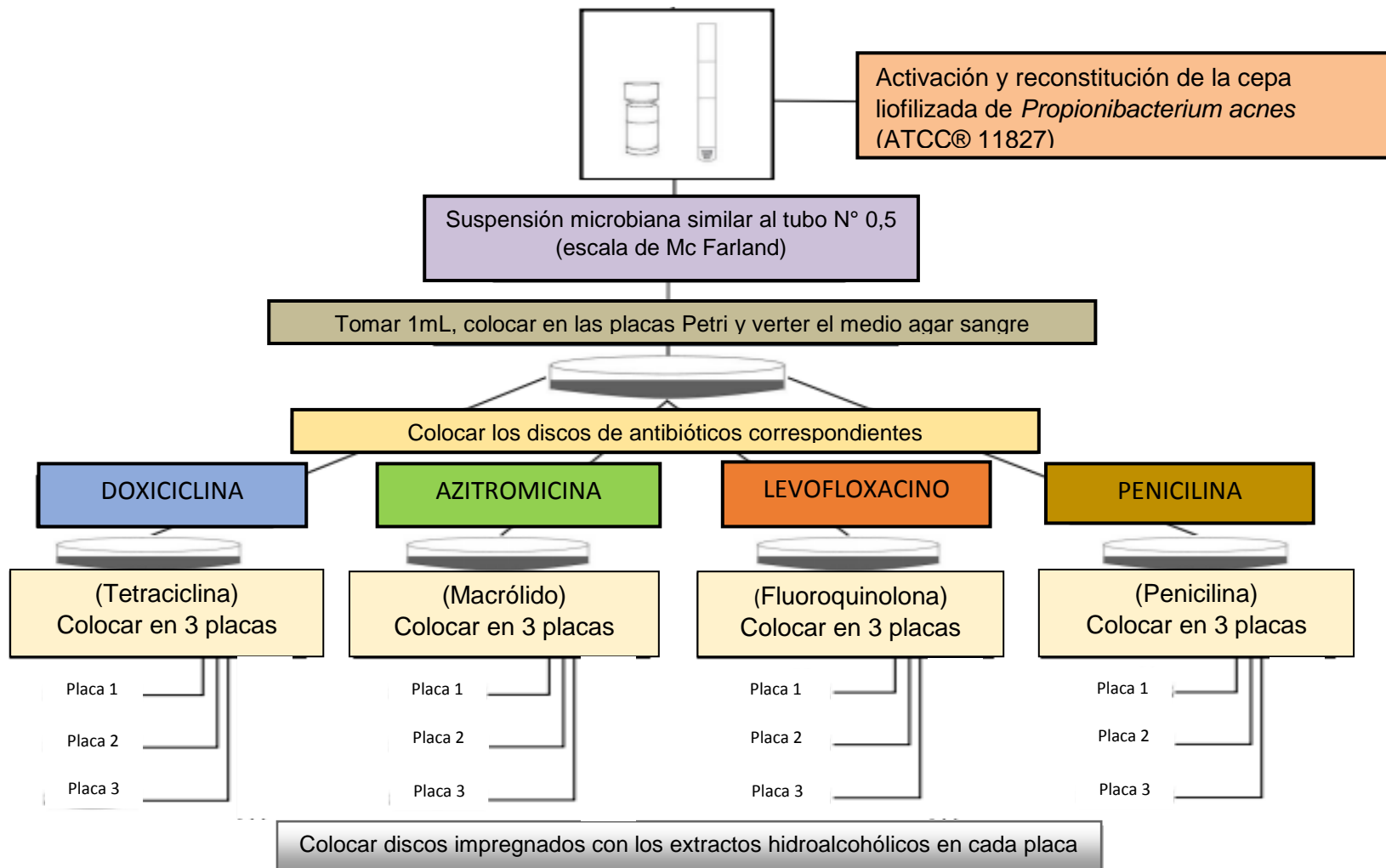


Figura N°8. Prueba de sensibilidad antibiótica de *Propionibacterium acnes* con discos de antibióticos y extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

IV. RESULTADOS

4.1 Prueba de Solubilidad

Los extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.), “canchalagua” son solubles en solventes polares, agua destilada y etanol 70°, poco solubles en metanol y alcohol de 96° e insolubles en éter etílico, cloroformo, acetona y n-hexano.

Tabla N°3. Prueba de Solubilidad de extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell (3 mg/1 mL EtOH)	
SOLVENTES	SOLUBILIDAD
AGUA DESTILADA	+
METANOL	±
ETANOL 70°	+
ETANOL 96°	±
ACETONA	-
COLORFORMO	-
ÉTER ETÍLICO	-
N-HEXANO	-

Leyenda: (+) soluble, (±) poco soluble, (-) insoluble

4.2 Análisis Fitoquímico Cualitativo

Todos los extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) carecen de lactonas, las hojas y el tallo presentan todos los metabolitos analizados en los ensayos y las flores carecen de alcaloides. **(Ver anexo 3).**

Tabla N°4. Análisis fitoquímico cualitativo de extractos hidroalcohólicos de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell “canchalagua” (10 mg/3 mL EtOH)

METABOLITOS	REACTIVOS	RESULTADOS			
		HOJAS	FLORES	TALLO	RAÍZ
CARBOHIDRATOS (AZÚCARES)	MOLISH	+	+	+	+
AZÚCARES REDUCTORES	FEHLING A y B	+	+	+	+
ALCALOIDES*	POPOFF	+	-	+	+
	WAGNER	+	-	+	+
	BURCHARD	+	-	+	+
	DRAGENDORFF	+	-	+	+
COMPUESTOS FENÓLICOS	FeCl ₃	+	+	+	+
ESTEROIDES Y TERPENOIDES	LIEBERMAN- BURCHARD	+	+	+	+
FLAVONOIDES	SHINODA	+	+	+	+
	AlCl ₃	+	+	+	+
LACTONAS	BALJET	-	-	-	-

Leyenda: (-) Ausencia, (+) presencia

*: Para las pruebas de Alcaloides se utilizó como solvente agua estéril acidulada.

4.3 Estudio Microbiológico

4.3.1 Prueba de sensibilidad antibiótica de *Propionibacterium acnes* con extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

Se comprobó que sí existe sensibilidad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz frente a *Propionibacterium acnes*, lo que se confirmó con la presencia de halos inhibitorios (la prueba fue positiva). En primer lugar se encontró mayor sensibilidad en las hojas, seguido de las flores, raíz y tallo. (Ver anexo 4).

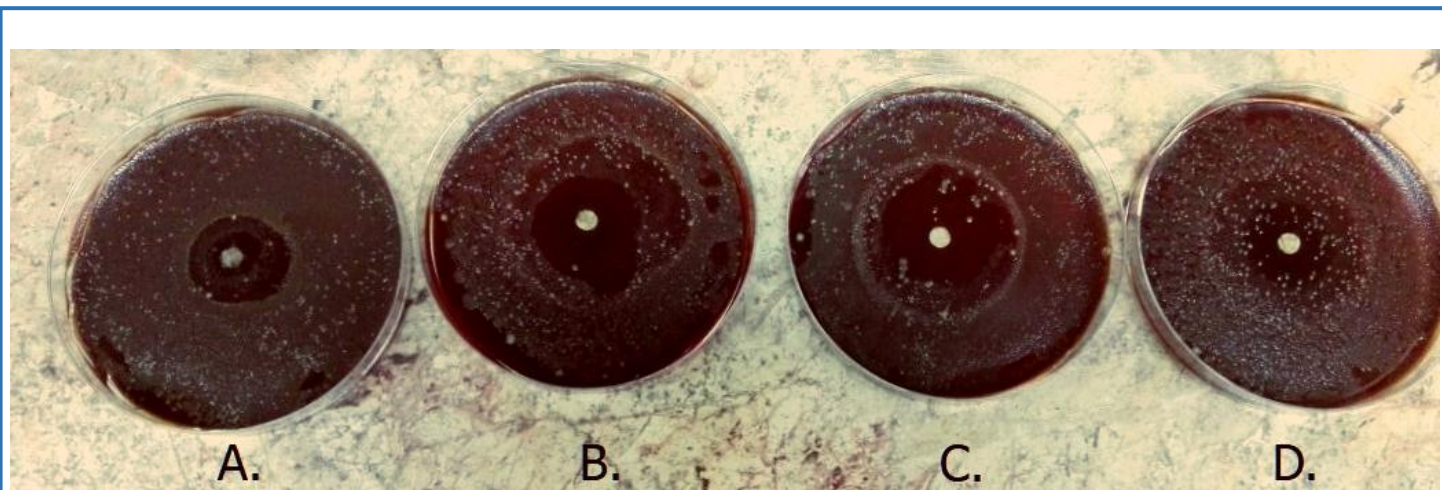
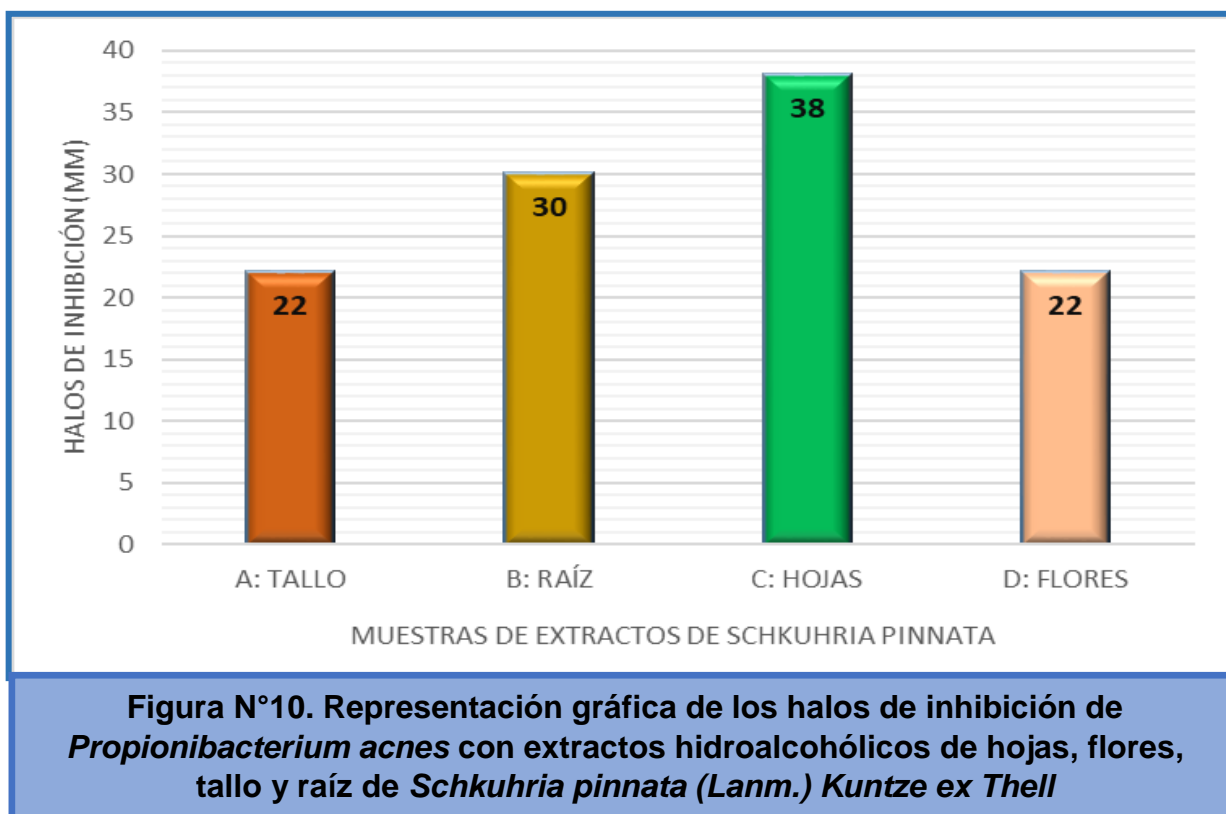


Figura N° 9. Placas con los resultados de los halos inhibitorios de *Propionibacterium acnes* con discos impregnados de muestras hidroalcohólicas, que corresponde (de izquierda a derecha): A (Tallo), B (Raíz), C (Hojas), D (Flores).

Tabla N°5. Prueba de sensibilidad de *Propionibacterium acnes* con extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

Muestras	Halo inhibitorio (mm)
A: TALLO	22
B: RAÍZ	30
C: HOJAS	38
D: FLORES	22



4.3.2 Prueba de sensibilidad antibiótica de *Propionibacterium acnes* con discos de antibióticos y extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

Se presentan los resultados por grupos, tres placas por cada uno (A, B, C y D) donde se colocaron los discos de antibióticos estándares: Doxiciclina, Levofloxacino, Azitromicina y Penicilina (Q.P.) frente a *Propionibacterium acnes*. Estos antibióticos presentan actividad frente a *Propionibacterium acnes* y son usados en el tratamiento de afecciones provocadas por este agente, es así que la penicilina es considerada como antibiótico de primera elección, la tetraciclina y levofloxacino son alternativas orales y la azitromicina es usada como alternativa a la resistencia a otros macrólidos como la eritromicina.

Los resultados de halos de inhibición de las muestras fueron en promedio de 16 mm tallo, 18 mm raíz, 28 mm hojas y 25 mm flores.

Tabla N°6. Promedio de Resultados de halos de inhibición por Grupo (3 placas por grupo)

Placas	PROMEDIO (mm)			
	A (Tallo)	B (Raíz)	C (Hojas)	D (Flores)
DOXICICLINA	20	16	18	18
LEVOFLOXACINO	26	28	28	27
AZITROMICINA	21	24	24	22
PENICILINA	21	23	21	20
MUESTRA	16	18	28	25

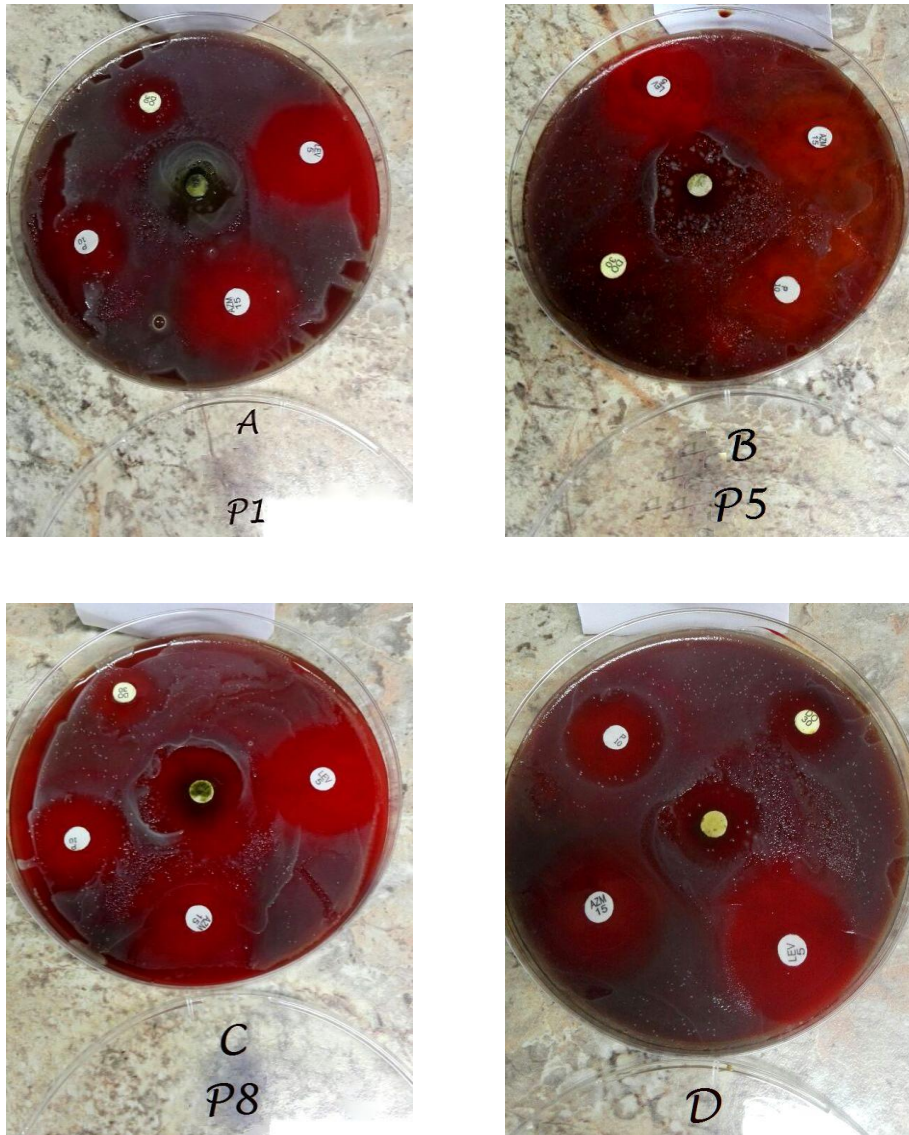


Figura N° 11. Resultados de los halos de inhibición de *Propionibacterium acnes* con extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell y discos de antibióticos.
 A: Placa N° 1. B: Placa N° 5. C: Placa N° 8. D: Placa N° 11

Tabla N°7. Prueba de sensibilidad antibiótica de *Propionibacterium acnes* con discos de antibióticos y extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

MUESTRAS (*)	CONTROL	TALLO			RAÍZ			HOJAS			FLORES		
	PLACAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
DOXICICLINA	22	20	21	20	15	16	17	18	19	16	19	17	17
LEVOFLOXACINO	28	27	26	25	28	29	27	28	28	27	27	28	26
AZITROMICINA	24	24	24	23	24	25	23	25	24	23	21	24	22
PENICILINA	22	21	20	21	23	23	22	21	22	20	20	21	19
(A) TALLO		16	15	16									
(B) RAÍZ					17	18	19						
(C) HOJAS								28	29	28			
(D) FLORES											25	26	24

(*) Datos expresados en mm (milímetros) de los halos inhibitorios

4.4. Representación gráfica de halos inhibitorios de sensibilidad antibiótica de *Propionibacterium acnes* con discos de antibióticos y extractos hidroalcohólicos de hojas, flores, tallo y raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell

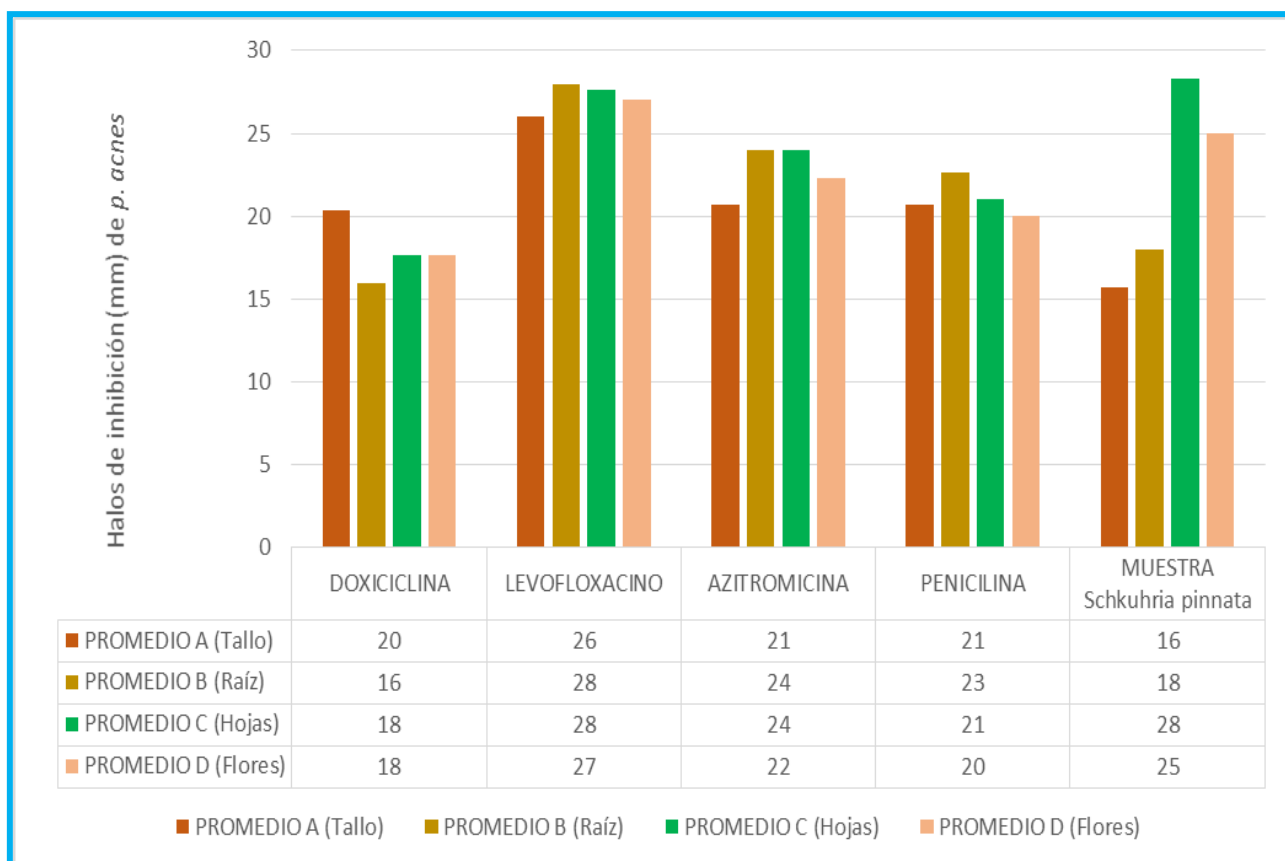


Figura N°12. Representación gráfica del promedio de los halos de inhibición (por grupos) de los extractos hidroalcohólicos de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell y discos de antibióticos estándar frente a *Propionibacterium acnes*.

Según los resultados la sensibilidad de *Propionibacterium acnes* con el extracto hidroalcohólico de las hojas (Grupo C) tuvo mayor halo de inhibición con respecto a las demás muestras con un diámetro de 28 mm.

El promedio del tallo y raíz coinciden con algunos halos de inhibición de Doxyciclina, en el caso de las hojas y flores el promedio se asemeja o supera los halos de inhibición de Doxyciclina, Azitromicina y Penicilina, el promedio de las hojas es similar al máximo valor de los promedios de inhibición de Levofloxacino.

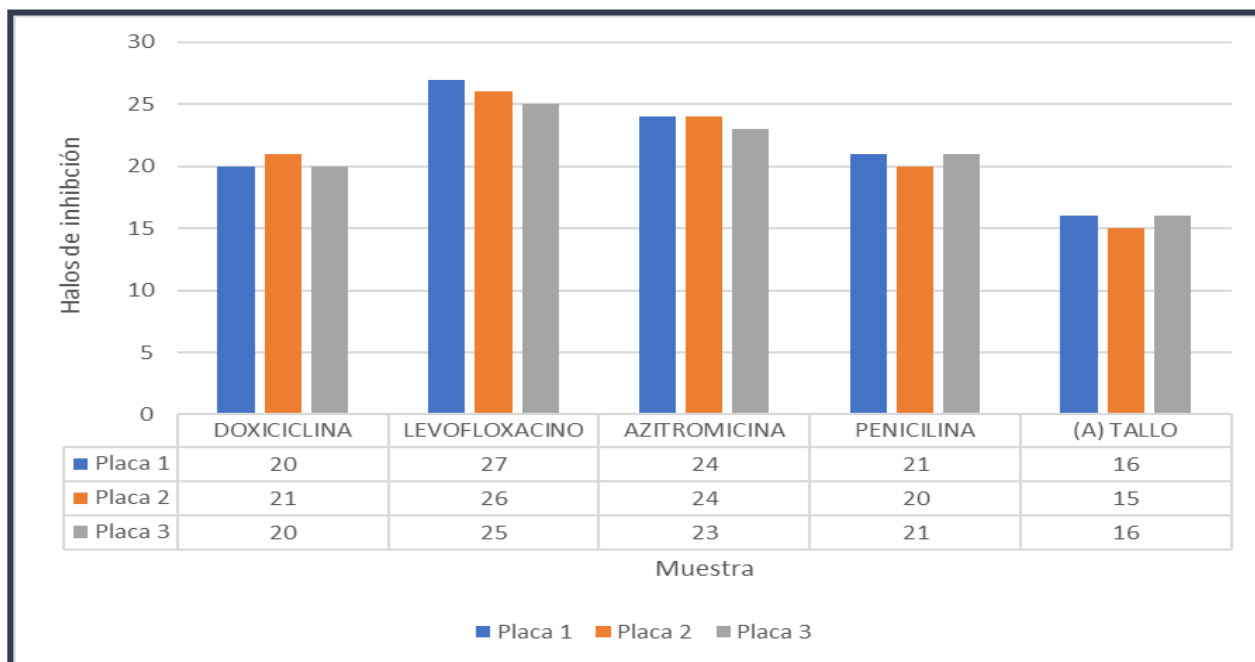


Figura N°13. Representación gráfica de los halos de inhibición de *Propionibacterium acnes* con el extracto del tallo de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell y discos de antibióticos estándar (Grupo A).

Los halos de inhibición de la muestra del Tallo son inferiores a los antibióticos estándar en las 3 placas.

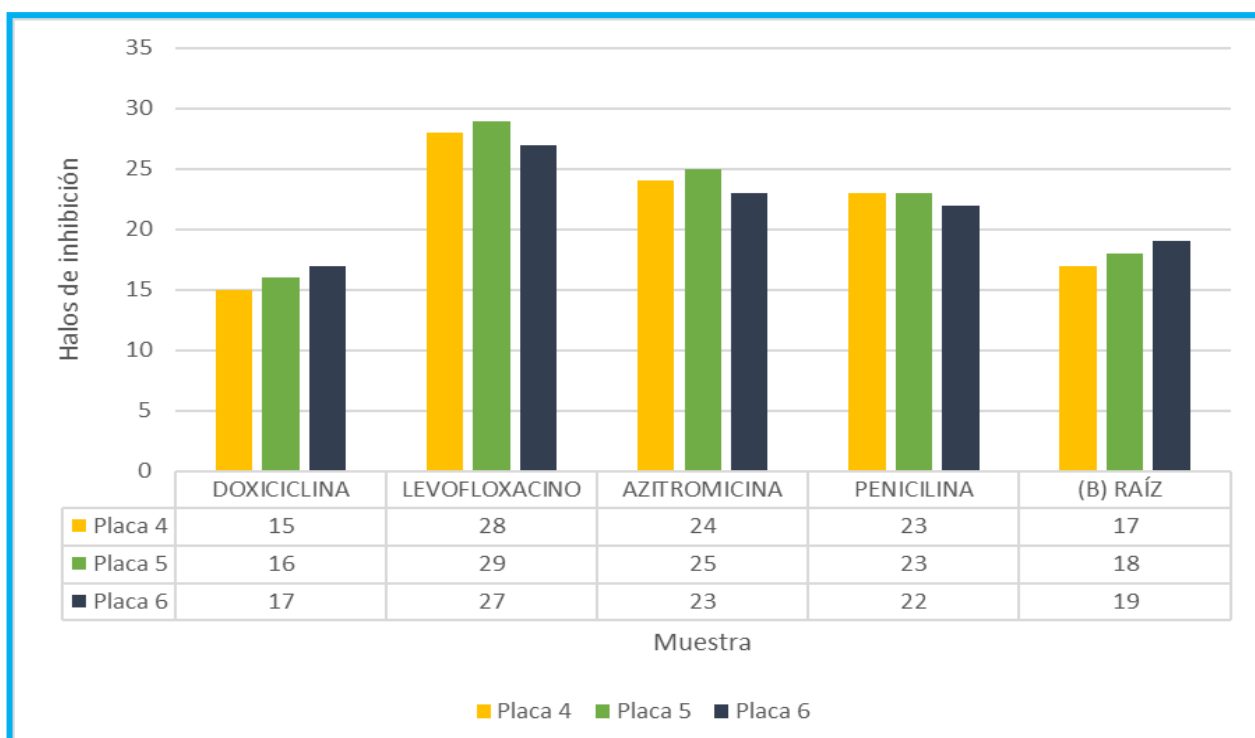


Figura N°14. Representación gráfica de los halos de inhibición de *Propionibacterium acnes* con el extracto de raíz de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell y discos de antibióticos estándar (Grupo B).

Los halos de inhibición de la muestra de la raíz son superiores a los halos de inhibición de Doxiciclina e inferiores al Levofloxacino, Azitromicina y Penicilina.

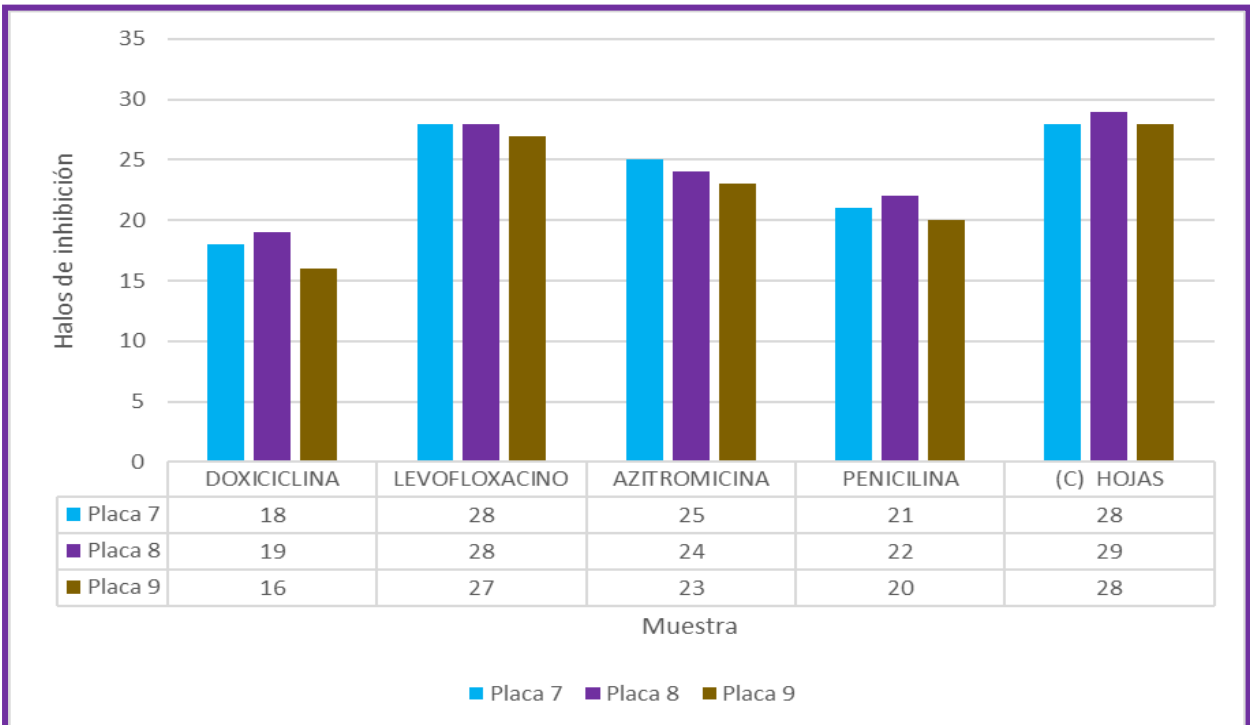


Figura N°15. Representación gráfica de halos de inhibición de *Propionibacterium acnes* con el extracto de hojas y discos de antibióticos estándar (Grupo C)
 Los halos de inhibición de las hojas son superiores a los halos de inhibición de Doxicilina, Azitromicina y Penicilina, dos de sus resultados se asemejan al Levofloxacino, pero en promedio es superior a este último.

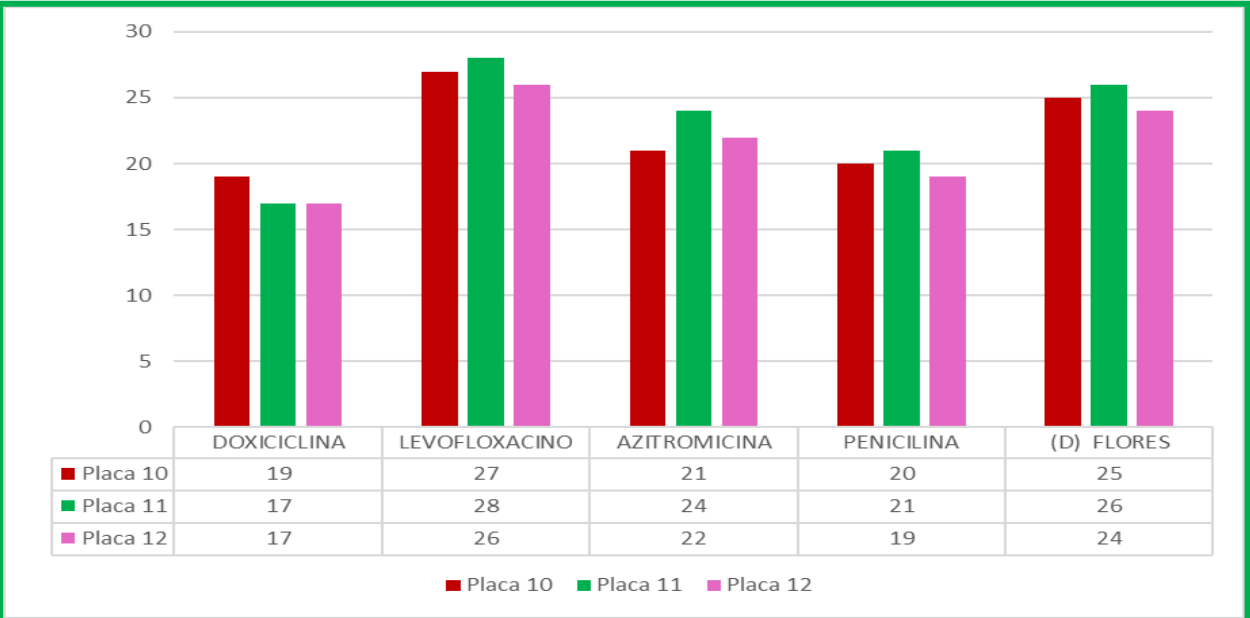


Figura N°16. Representación gráfica de los halos de inhibición de *Propionibacterium acnes* con el extracto de flores y discos de antibióticos estándar (Grupo D).
 Los halos de inhibición de las flores son superiores a la Doxicilina, Azitromicina y Penicilina, uno de los resultados es similar al Levofloxacino, pero en promedio es inferior al mismo.

V. DISCUSIÓN

De acuerdo con la Tabla N°3, la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) demostró ser soluble con agua y etanol de 70 grados, conforme con lo expuesto por Ramírez ⁽⁶⁾ indicando además de estos dos solventes, con Cloroformo también resultó positivo, sin embargo en el trabajo de Castro, Mendoza et.al.⁽¹⁶⁾ indican poca solubilidad con cloroformo y éter etílico del extracto etanólico de *Flourensia polycephala* Dillon (phauka) (Asteraceae), destacando etanol de 70 grados en ambas referencias, solvente que utilizamos en la marcha fitoquímica.

Según la Tabla N°4, los fitoconstituyentes hallados en las muestras fueron alcaloides, compuestos fenólicos, esteroides y flavonoides, principalmente en las muestras de hojas y tallo, lo cual concuerda con los metabolitos identificados por Ramirez ⁽⁶⁾, Castro et.al.⁽¹⁶⁾, Soto ⁽¹⁷⁾ y Nogueira et.al.⁽¹²⁾, deduciendo a que estos componentes se encuentran frecuentemente en la familia *Asteraceae*, en el caso de las lactonas los resultados varían en cada trabajo de investigación encontrando poca o nula cantidad salvo por el trabajo de Nogueira donde se destaca su presencia en las especies del género *Vernonia* (Asteraceae) las cuales en especial las lactonas sesquiterpénicas están relacionadas con actividad antifúngica, citotóxica, insecticida y antitumoral.

Según la Tabla N°4 Los compuestos fenólicos presentes en la *Schkuhria pinnata* (Lanm.) identificadas con tricloruro férrico podría significar presencia de taninos, los cuales tendrían un papel fundamental en su actividad antibacteriana contra *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 acorde a lo expuesto por Choi J⁽⁵¹⁾, en su estudio de los compuestos responsables de la actividad antibacteriana de *Ecklonia cava* (Asteraceae) contra *Propionibacterium acnes* ⁽⁵¹⁾ resultando positivos los ensayos con los Florotaninos dieckol y phlorofucofuroeckol-A mediante cromatografía en columna y HPLC, los taninos podrían ser los agentes antibacterianos de la especie vegetal contra *Propionibacterium acnes*.

Según la Tabla N°5, tenemos los halos inhibitorios de las cepas liofilizadas de *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 como respuesta de sensibilidad antibacteriana frente a los discos impregnados con las muestras de los extractos etanólicos de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) con valores de 22, 30, 38 y 22 mm y un promedio de 28 mm, valor que se encuentra dentro del rango permisible para considerarse una inhibición de categoría S (Sensible) según el Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad por el método de disco difusión del INS ⁽⁵⁴⁾ y tomando como referencia los patrones estándar del halo de inhibición de la SEIMC ⁽⁵⁵⁾. Sumando a lo expuesto, en la revista *Folia dermatol* ⁽¹⁶⁾, el halo de inhibición promedio de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, microorganismo presente en la formación del acné, con el extracto etanólico de *Flourensia polycephala* Dillon (phauka), especie perteneciente a la familia *Asteraceae*, con un halo de inhibición promedio de 8,1 mm, teniendo como base su mínima concentración inhibitoria, el mismo extracto alcanzando a su máxima concentración llega a un halo inhibitorio de 18,5 mm lo cual deduce en el trabajo expuesto, un extracto con moderada actividad antibacteriana, la diferencia que existe es notoria ya que la muestra de *Schkuhria pinnata* presenta mayor inhibición y por tanto se podría hablar de un extracto con alta actividad antibacteriana.

De acuerdo con las Tablas N°6 y 7 y el gráfico de la Figura N°13, los resultados de los halos de inhibición de la cepa liofilizada de *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 con los extractos etanólicos y los discos de antibióticos estándar, los valores de los halos de las muestras se asemejan al de los medicamentos; los promedios de las muestras en los grupos A y B (tallo y raíz) son similares a la doxiciclina de 16 y 18 mm respectivamente mientras los promedios de la inhibición por la muestra de hojas supera a la de los antibióticos levofloxacino y azitromicina con 28 mm e iguala a los de la penicilina, demuestra tener mayor relevancia con respecto al trabajo publicado por Castro, et.al. ⁽¹⁶⁾ ya que los halos de *Flourensia polycephala* Dillon (Familia *Asteraceae* con de 8,1 mm en su mínima concentración inhibitoria y 18.5 mm en su máxima concentración son menores con respecto al halo de su antibiótico estándar Neomicina, con 21,7 mm aunque se asemejan a los valores del segundo estándar Bacitracina que tiene un halo promedio de 10 mm, acorde al trabajo publicado en IJIRD ⁽¹¹⁾ , por el método de Total Bacterial Count o TBC, los descensos en los recuentos de bacterias de *Staphylococcus aureus* fueron drásticos

desde concentraciones de 40 a 80% del extracto, a pesar que los resultados no se asemejaron a su antibiótico estándar Gentamicina, se demostró que aumentando las concentraciones del extracto, los recuentos de las 3 cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*) disminuyeron significativamente; esto nos demuestra que es importante las concentraciones de la muestra vegetal de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) que se utilizará tanto para el estudio o análisis de su actividad antibacteriana contra agentes patógenos como para la elaboración de futuras aplicaciones farmacéuticas que signifique una alternativa que pueda sustituir y/o mejorar la eficacia de los medicamentos utilizados en afecciones como el acné vulgar.

Según la Tabla N°6 los promedios de los halos inhibitorios de las muestras A (tallos) y B (raíz) son los más bajos o inferiores comparados con el promedio de las muestras C (hojas) y D (flores), teniendo en cuenta lo expuesto en la Revista *Scientia et Technica* ⁽⁵⁶⁾; El método de difusión en agar con discos o Kirby-Bauer presenta varias desventajas; una de ellas es la composición del papel filtro Whatman el cual se compone de celulosa (uniones b-(1-4) de monómeros de glucosa), los cuales tienen muchos grupos hidroxilos libres presentes en cada glucosa, haciendo que la superficie del disco sea hidrofílica, interviniendo directamente con algunos compuestos catiónicos de los productos naturales absorbiéndolos en la superficie del disco e impidiendo la difusión de estos en el agar, los compuestos apolares pueden no ser influenciados por dichos grupos hidroxilos y difundir fácilmente en el agar. Esto puede explicar en algunos casos la ineficacia o bajos resultados en las pruebas de Difusión en agar con discos impregnados de ciertas muestras vegetales.

VI. CONCLUSIONES

Se identificó metabolitos en los extractos hidroalcohólicos de las muestras por análisis fitoquímico cualitativo, determinando que los extractos de hojas y tallo tienen mayor presencia de fitoconstituyentes. Las 4 muestras presentan azúcares reductores, carbohidratos, compuestos fenólicos, flavonoides y esteroides y terpenoides, los 4 últimos pueden ser los responsables de la actividad antibacteriana que presenta *Schkuhria pinnata* (Lanm.) frente a *Propionibacterium acnes*.

Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de la especie vegetal *Schkuhria pinnata* (Lanm.), los cuales resultaron positivos frente a las cepas de *Propionibacterium acnes* por el método de Difusión en agar, siendo en algunos casos similares o superiores a la inhibición por los discos de antibióticos estándar.

Se determinó que el extracto hidroalcohólico de las hojas presentó mayor actividad antibacteriana frente a *Propionibacterium acnes* con un promedio de 28 mm superior a los otros extractos, lo que demuestra que tiene buena actividad antibacteriana similar a la del antibiótico Levofloxacino.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se sugiere realizar análisis más específicos de los metabolitos presentes en la especie vegetal especialmente en hojas y flores, se recomienda realizar análisis como Cromatografía líquida de alta performance (HPLC) o espectrofotometría infrarroja (IR) para determinar grupos funcionales específicos u otros compuestos que pueden estar presentes.
2. Al comprobarse la actividad antibacteriana mediante el método Kirby-Bauer o Difusión en disco se pueden realizar otros ensayos microbiológicos para confirmar el efecto bactericida de la especie vegetal analizada.
3. Se sugiere realizar estudios *in vivo* y/o ensayos clínicos de los extractos a distintas concentraciones para determinar la dosis efecto, dosis letal y toxicidad.
4. Con los resultados, se aconseja utilizar las partes aéreas de la planta, como las flores y hojas, para evitar erradicar la planta entera contribuyendo a la reducción de la contaminación ambiental, acumulación de maleza o destrucción de los terrenos fértiles.
5. La conservación de la cepa de *Propionibacterium acnes* es vital por lo cual se realizó los cuidados adecuados y con los materiales correspondientes para el correcto crecimiento anaerobio de la bacteria, tales como jarra de anaerobiosis y sachet generador de anaerobiosis como se indica en el Método de los *Requerimientos de Crecimiento* descrito en *Microbiologics*®. Sin embargo, las condiciones climáticas también han favorecido a su crecimiento ya que según el trabajo realizado por los autores Bussman et.al., solo se pudo comprobar la actividad antibacteriana de *Schkuhria pinnata* contra *Staphylococcus aerus* y no contra *Propionibacterium acnes* porque las condiciones ambientales no favorecieron al estudio, por lo cual se recomienda realizar análisis o estudios de la bacteria en condiciones que favorezcan su activación o crecimiento.
6. Se exhorta tomar en consideración el presente trabajo como antecedente de estudios a la especie vegetal para futuras aplicaciones y usos en formas farmacéuticas, tanto orales como tópicos a escala industrial, producto natural y preparado magistral para pacientes con esta afección epitelial (acné vulgar) determinando a qué concentración es efectiva según la forma farmacéutica que se desee emplear.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jara, A. Análisis fitoquímico y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de la especie *Piper imperiale* (Piperaceae). [Tesis para optar el grado de Químico] Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A Facultad de Ciencia y Tecnología Química; 2013
2. Molinelli M, Perisse P, Fuentes E, Panchuelo A. Calidad botánica de drogas crudas comercializadas como "Canchalagua" en Córdoba, Argentina. Bol. Soc. Argent. Bot. 2014. 49 (2): 293-316.
3. Ramírez W. Manejo y Tratamiento del acné (Bases para el diagnóstico y tratamiento). Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica LXXI (609) 107 – 110,2014.
4. Atlas ilustrado de Plantas Medicinales y curativas. Editorial Susaeta. Madrid - España. 2014. 307p.
5. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Editorial PUCP. Perú. 1994. 5-28p.
6. Ramírez F. Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze "Canchalagua" en ratas albinas. [Tesis para optar el grado de magister en Farmacología experimental]. Unidad de Postgrado Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2010.
7. Rodas C. Ficha informativa de producto "Canchalagua" *Schkuhria pinnata* Catalogo de Materia Prima Inkaplus. [Citado el 05 de julio de 2017] [revista en internet]. 2012. Disponible en <http://www.inkaplus.com/media/web/pdf/Canchalagua.pdf>
8. Infante R. Comparación de la Genotoxicidad in vitro de *Schkuhria pinnata* (Lam.) Kuntze "canchalagua" frente a ADN genómicos de: humano, *candida* y *staphylococcus*. [Tesis para obtener el grado académico de Maestro en Atención Integral de Salud]. Ayacucho, 2014.
9. Bussmann R, Douglas S, Díaz D, Barocio Y. Peruvian plants canchalagua (*Schkuhria pinnata* (Lam.) Kuntze), hercampuri (*Gentianella alborosea* (Gilg.)

- Fabris*), and corpus way (*Gentianella bicolor* (Wedd.) J. Pringle) prove to be effective in the treatment of acne. Revista Arnaldoa. 2013; Vol. 20 N°1(149-152).
10. Caldusch M. *Schkuhria pinnata* (Lanm.) O. Kuntze; adventicia nueva para la Flora Española. Revista Anales del Jardín Botánico de Madrid. 2012; Vol 69 N° 1 (305-317).
 11. Mupfure A, Matondi G, Imbayarwo V, Nyamushamba G. Potential Use of *Schkuhria Pinnata* in the Control of Mastitis Pathogens. IJIRD- International Journal of Innovative Research & Development. 2014 [Citado el 31 de Julio del 2017] Vol. 3(11): 415 – 420. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/271521783_Potential_use_of_schkuhria_pinnata_in_the_control_of_mastitis_pathogens.
 12. Nogueira A, Bezerra E, Oliveira R. A review on antimicrobial potential of species of the genus *Vernonia* (Asteraceae). Journal of Medicin Plants Research [Internet]. 2015 [Citado el 02 de Agosto de 2017] Vol. 9(31): 838-850. Disponible en <http://www.academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text-pdf/3AC6F7C54895>.
 13. Nand P, Drabu S, Gupta K. Phytochemical and antimicrobial screening of medicinal plants for the treatment of acne. Revista Indian Journal of Natural and Resources. 2012 Vol. 3 (1) pp 28-32.
 14. Efstratios E, Abdullah H, Poonam N, Moore J, Muhammad A, Juluri R. Antimicrobial activity of *Calendula Officinalis* petals extracts again Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. Revista Complementary Therapies in Clinical Practice. 2012; 18. 173-176.
 15. Díaz J. Estructura Química del Extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* sm. “chincho”, actividad antibacteriana y antifúngica en la aplicación de un alimento andino [Tesis para optar el grado académico de Magister en Ciencias de los alimentos] Unidad de Postgrado Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2014.
 16. Castro V, Mendoza Y, Serrano C, Del Carpio C. Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólico y clorofórmico de *Flourensia polycephala* Dillon (phauka) y elaboración de una forma farmacéutica tópica para su evaluación in

vivo en infecciones dérmicas por *Staphylococcus aureus*. Revista Folia dermatol 2012, Vol. N°23(2): 53-59.

17. Soto M. Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus Rusby* (Asteraceae). [Tesis para optar el Título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima. Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2015.
18. Pimentel E, Castillo D, Quintana M, Maurtua D, Villegas L, Díaz C. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. Revista Estomatología Herediana. 2015 Vol. N°25(3):268-77.
19. De la Cruz A. Acción antimicrobiana del extracto etanólico del *Gnaphalium vira vira* (Wira Wira) [Tesis para optar el grado académico de magíster scientiae en salud pública]. Puno. Escuela de Postgrado Maestría en Salud Pública Universidad Nacional del Altiplano. 2014.
20. Fortuna E. Evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas frescas de *Mutisia acuminata* R. & P. 'chinchilcuma' en cerebros y cerebelos de ratas albinas cepa Holtzman [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima. Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Norbert Wiener. 2013.
21. León A, Reyes BM, Chávez MI, Toscano RA, Delgado G. Sesquiterpene lactones, acyl phenyl propanoids and other constituents from *Schkuhria pinnata* var. *wislizeni*. antioxidant evaluation. J Mex Chem Soc. 2009;53(3):193–200.
22. Trópicos. [Base de datos en internet]. Missouri, Saint Louis: Missouri Botanical Garden: [Actualizado el 24 de Octubre del 2017/ Citado el 25 de Octubre del 2017]. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/2717708>.
23. The International Plant Names Index I.P.N.I. [Base de datos en internet]. Plant Names Project. The Royal Botanic Gardens, Kew, The Harvard University Herbaria, and the Australian National Herbarium. [Actualizado 2005/ Citado el 15 de Setiembre del 2017]. Disponible en: http://www.ipni.org/ipni/idPlantNameSearch.do?id=11046462&back_page=%2Fip

ni%2FeditAdvPlantNameSearch.do%3Ffind_infragenus%3D%26find_geoUnit%3D%26find_includePublicationAuthors%3Dtrue%26find_addedSince%3D%26find_family%3D%26find_genus%3DSchkuhria%26find_infrafamily%3D%26find_rankToReturn%3Dspec%26find_publicationTitle%3D%26find_authorAbbrev%3D%26find_infraspecies%3D%26find_includeBasionymAuthors%3Dtrue%26find_modifiedSince%3D%26find_species%3Dpinnata%26output_format%3Dnormal.

24. Global Compositae. [Base de datos en internet]. Copenhagen. Global Biodiversity Information Facility. [Actualizado 2017/Citado 25 de Octubre del 2017]. Disponible en: <https://www.gbif.org/species/3101235>.
25. Duke J. Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America. London. Editorial CRC Press Taylor & Francis Group. 1ra Edición. 2008. 612 p.
26. Rosales M. Aislamiento, caracterización y actividad biológica de flavonoides y otros constituyentes de la planta *Conocliniopsis prasiifolia* (ASTERACEAE) [Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al Título de Licenciado en Química] Universidad de Oriente Núcleo de Sucre Escuela de Ciencias Departamento de Química. Cumaná. 2013.
27. Marks R, Motley R. Dermatología. México D.F. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. 18va Edición. 2012. 1-2pp.
28. Valdes R, Torres B, Gonzalez J, Almeda P. La piel y el sistema endocrinológico .Revista Gaceta Médica de México. 2012. Volumen N°148(8):162-168.
29. Palacios, G. FDA [en línea]. Caracas- Venezuela, 2012. Efectos secundarios peligrosos automedicación. 124-127 p. [Consulta: 04 Septiembre 2017]. Disponible en: <http://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ConsumerUpdatesEnEspañol/ucm402990>.
30. Viteri G. Elaboración y control de calidad de una crema facial para el acné a base del extracto alcohólico de tomillo (*Thymus vulgaris*) [Tesis de grado previo a la obtención del título de: Bioquímico Farmacéutico] Riobamba – Ecuador. 2015.
31. Cruz E. Caracterización bioquímica y susceptibilidad a antimicrobianos de cepas de *Propionibacterium acnes* aisladas de personas con acné. Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias. Escuela de ciencias veterinarias. [Memoria para optar al

Título Profesional de Médico Veterinario] Universidad de Chile - Santiago de Chile-2010.

32. Mora L. Formulación de un gel cosmético antiacné a base de extracto de flores de caléndula (*Caléndula officinalis*) y propóleo. [Tesis de grado previa para la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2013.
33. Christensen G, Brüggemann H. Bacterial skin commensals and their role as host guardians. *Benef Microbes*. 2014; 5 (2):201–15.
34. Behzadi E, Behzadi P, Voicu C. *Propionibacterium acnes* and the skin disease of acne vulgaris. *RoJCED* 2016; 3(2):117 – 120
35. Quintero Y, Asuaje L, Franco F, Roye R. *Propionibacterium acnes*: pasado, presente y futuro. *Dermatología. Venezuela*. Vol.53 • N°2 • 2015.
36. Solís M, Velasco N. Estudio sobre la susceptibilidad antimicrobiana del *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis* en pacientes con acné vulgaris, atendidos en el servicio de Dermatología en el Hospital general Enrique Garcés, en el periodo comprendido entre junio y agosto 2015. [Disertación previa a la obtención de Título de Médico Cirujano] Quito. 2015.
37. Hardy D, Vicino D, Keedy K, Fernandes P. Susceptibility of Contemporary *Propionibacterium acnes* to Fusidic Acid. Washington DC, USA.2014. [Internet]. 2015 [Citado el 22 de Octubre de 2017]. Disponible en: http://www.cempra.com/common/pdf/posters/D867_ICAAC%202014_Susceptibility%20of%20Propionibacterium%20acnes%20to%20Fusidic%20Acid%20%20FINAL.pdf
38. Sharma R, Lall N. Antibacterial, antioxidant activities and cytotoxicity of plants against *Propionibacterium acnes*. *South African Journal of Science*. 2014. Vol 110, Núm. (11/12). 8.
39. Vallejos CI, Guerra M, López M, Valdéz J, Ramírez B, Ortiz R. Acné moderado. Utilidad del tratamiento combinado con antibióticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 2012. Vol. 32, Núm. (2): 55-60.
40. Zaenglein A, Arun P, Schlosser B, Alikhan A, Baldwin H, Berson D, et.al. Guide Of care for the management of acne vulgaris. *Journal Am Academy Dermatology* 2016. Vol. 74: 945-73

41. Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad. eCIEMaps v3.1.2. [Base de datos en Internet]. Madrid. Gobierno de España. 2008. [Actualizado el 01 de Mayo del 2010; Citado el 21 de Octubre del 2017]. Disponible en: http://eciemaps.msssi.gob.es/ecieMaps/browser/index_10_2008.html#search=ACNE+VULGAR&index=enf&searchId=1508638123361&historyIndex=1.
42. Alvarez A, Brito C. Evaluación de las creencias y percepciones que tienen los pacientes con acné en el Centro de la Piel (CEPI), en un periodo comprendido entre Diciembre 2011 a Marzo 2012. [tesis para optar el Título profesional de Médico cirujano]. Quito. Facultad de Medicina Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 2012.
43. Juracán, M. Sintomatología de ansiedad, depresión e ideación suicida en pacientes con acné. Estudio descriptivo, transversal realizado en pacientes comprendidos entre 10 y 35 años, que asisten a la consulta externa del Instituto de Dermatología y Cirugía de Piel -INDERMA. [tesis pregrado]. Guatemala. Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala. 2010.
44. Luque A. Acné vulgar Clasificación y Tratamiento. Revista Ámbito Farmacéutico Dermofarmacia OFFARM. 2005; Vol N°24 (8); 77-82.
45. Wolff K, Johnson R, Saavedra A. Fitzpatrick Atlas de Dermatología Clínica. México D.F. Editorial McGraw-Hill Interamericana S.A. 17va Edición. 2014. 2-6 pp.
46. Álvarez M, Rodríguez E, Ponce R, Tirado A, Arellano M. ¿Resistencia al acné? Un metaanálisis a propósito de la controversia. Cirugía y Cirujanos. 2016; 84 (3):190-195.
47. Gómez Herrera, Carolina. El Acné y su tratamiento. Centro Nacional de Información de Medicamentos, Instituto de Investigaciones Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica, 2003.
48. Kaminsky A. Rol del *Propionibacterium acnes* en el acné. in: Piquero Martín j, editor. Antibióticos en Dermatología. 1° Ed. Venezuela; 2015. p. 323–37.
49. Al-Ghazzewi F, Tester R. Effect of konjac glucomannan hydrolysates and probiotics on the growth of the skin bacterium *Propionibacterium acnes* in vitro. International Journal of Cosmetic Science, 2010, 32, 139 – 142.

50. Vega, M. Acné Vulgar [sede web] Dr. Síndrome de Ovarios Poliquísticos Managua. 2016. [Actualizado el 20 de Junio del 2016; Citado el 22 de Octubre del 2017]. Disponible en: <http://ovariospoliquisticosmanagua.blogspot.pe/2016/06/acne-vulgar.html>
51. Choi J, Lee K, Lee B, Kim Y, Kim Young, Hong Y, et. al. Antibacterial activity of the Phlorotannins dieckol and Phlorofucofuroeckol -A from *Ecklonia cava* against *Propionibacterium acnes*. Revista Botanical Sciences. 2014. Vol N° 92 (3): 425-43.
52. Matiz G, Osorio M, Camacho F, Atencia M, Herazo J. Diseño y evaluación in vivo de fórmulas para acné basadas en aceites esenciales de naranja (*Citrus sinensis*), albahaca (*Ocimum basilicum L*) y ácido acético. Revista Biomédicos 2012;32: 125-33.
53. Careaga K, Ibarra C, Monroy D, Ruíz R, Trejo D, Valencia J, Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de raíz y flor de *Equinacea purpurea*. [Monografía en Internet]. México: XXIII Concurso universitario Feria de la Ciencias, la tecnología y la innovación – UNAM, 2015 [Citado el 16 de Setiembre de 2017] Disponible en: http://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria23/feria294_01_evaluacion_de_la_actividad_antimicrobiana_de_extra.pdf
54. Lecca L. Manual de Procedimientos para la prueba de Sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco difusión. Instituto Nacional de Salud. Ministerio de Salud. Lima. 2002. Serie de Normas Técnicas N°30.
55. Picazo J. Métodos Básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Procedimientos de Microbiología Clínica. SEIMC - Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 1° Edición. Madrid. 2002. Documento científico N° 11.
56. Ramirez, L, Marín, D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Universidad Tecnológica de Pereira. Revista Scientia et Technica 2009; Vol N°42: 263-268.
57. Farmacopea de los Estados Unidos Americanos. USP 40 NF 35. Vol 1. 2017. 133 p.

ANEXOS


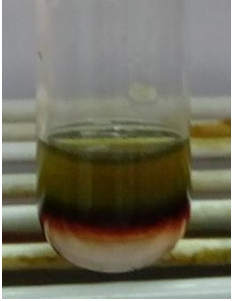


Anexo 1. Certificado botánico *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell var. *pinnata* del Museo de Historia Natural de la Universidad Mayor de San Marcos.





	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA MUSEO DE HISTORIA NATURAL</p>	
<p><i>"Año del Buen Servicio al Ciudadano"</i></p>		
<p>CONSTANCIA N° 110-USM-2017</p>		
<p>EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>		
<p>La muestra vegetal (rama florida), recibida de Laura Isabel CONDORI ANTIALON, de la Universidad Privada Norbert Wiener; ha sido estudiada y clasificada como: <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):</p>		
<p>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</p>		
<p>CLASE: MAGNOLIOPSIDA</p>		
<p>SUB CLASE: ASTERIDAE</p>		
<p>ORDEN: ASTERALES</p>		
<p>FAMILIA: ASTERACEAE</p>		
<p>GENERO: <i>Schkuhria</i></p>		
<p>ESPECIE: <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell</p>		
<p>Nombre vulgar: canchalagua Determinada por: Mg. Asunción A. Cano Echevarría</p>		
<p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.</p>		
<p>Lima, 14 de junio de 2017</p>		
<p> Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)</p>		
<p>ACE/ddb</p>		
<hr/>		
Av. Arenales 1256, Jesús María Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú	Telfs. (511)471-0117, 470-4471 265-6819, 619-7000 anexo 5703	e-mail: museohn@unmsm.edu.pe http://museohn.unmsm.edu.pe

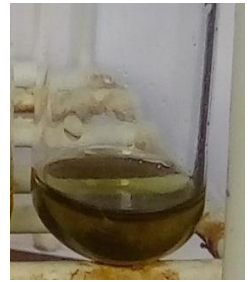



Anexo 2. Secado de la especie recolectada *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell en el Centro de Investigación de la Universidad Norbert Wiener.

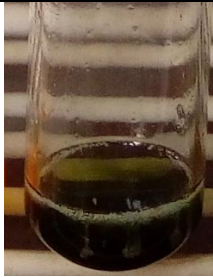







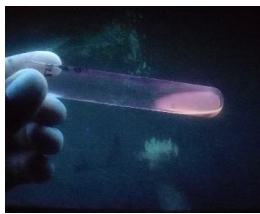
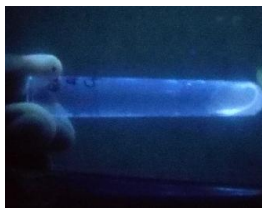
Anexo 3. Resultados del Análisis Fitoquímico cualitativo de las muestras de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell.

PRUEBA	HOJAS	FLORES	TALLO	RAÍZ
MOLISH (H ₂ SO ₄)				
OBSERVACION	(+) FORMACIÓN DE ANILLO EN LA PARTE MEDIA	(+) FORMACIÓN DE ANILLO EN LA PARTE MEDIA	(+) FORMACIÓN DE ANILLO EN LA PARTE MEDIA	(+) FORMACIÓN DE ANILLO EN LA PARTE MEDIA
INTERPRETACIÓN	Presencia de azúcares	Presencia de azúcares	Presencia de azúcares	Presencia de azúcares


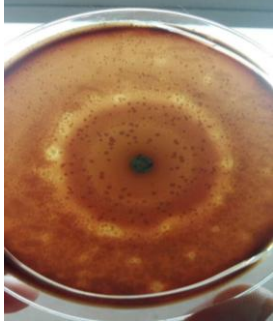

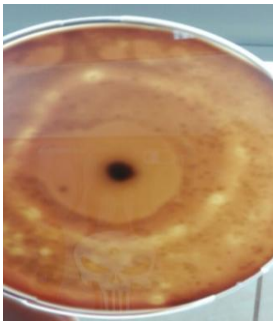

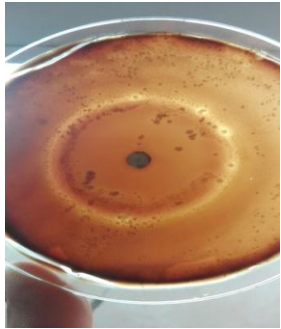

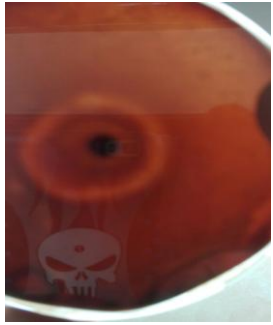
PRUEBA	HOJAS	FLORES	TALLO	RAÍZ
FEHLING				
OBSERVACION	(+) NO HAY CAMBIO DE COLOR EN LA BASE – PRESENCIA DE PRECIPITADO LIGERAMENTE ROJO	(+) LIGERO CAMBIO DE COLOR OSCURO EN LA BASE – PRESENCIA DE PRECIPITADO ROJO	(+) CAMBIO DE COLOR – PRESENCIA DE PRECIPITADO ROJO MUY NOTORIO	(+) LIGERO CAMBIO DE COLOR - PRECIPITADO ROJIZO EN LAS PAREDES DE TUBO
INTERPRETACIÓN	Presencia de azúcares reductores	Presencia de azúcares reductores	Presencia de azúcares reductores	Presencia de azúcares reductores

PRUEBA	HOJAS	FLORES	TALLO	RAÍZ
FeCl ₃				
OBSERVACION	(+) CAMBIO A COLOR VERDE OLIVA OSCURO	(+) CAMBIO A COLOR VERDE OLIVA MUY OSCURO	(+) CAMBIO A COLOR VERDE OLIVA	(+) CAMBIO A COLOR AMARILLO VERDOSO
INTERPRETACIÓN	Presencia de compuestos fenólicos	Presencia de compuestos fenólicos	Presencia de compuestos fenólicos	Presencia de compuestos fenólicos

PRUEBA	HOJAS	FLORES	TALLO	RAÍZ
SHINODA				
OBSERVACION	(+) CAMBIO A COLOR VERDE OLIVA OSCURO Y ROJO EN LA BASE – PRECIPITADO ROJO	(+) CAMBIO A COLOR PARDO O MARRON CLARO	(+) CAMBIO A COLOR VERDE OLIVA OSCURO Y ROJO EN LA BASE – PRECIPITADO ROJO	(+) CAMBIO A COLOR TRANSLUCIDO O SIN COLOR CON LIGERA TURBIDEZ – SIN PRECIPITADO APARENTE
INTERPRETACIÓN	Presencia de núcleo de Flavonoides	No refiere presencia de Flavonoides	Presencia de núcleo de Flavonoides	Posible presencia de flavonoides como la chalcona

PRUEBA	HOJAS	FLORES	TALLO	RAÍZ
AICI3				
OBSERVACION	(+) FLUORESCENCIA ROJA Y AMARILLA (en la parte superior)	(+) FLUORESCENCIA AMARILLA	(+) FLUORESCENCIA ROJA Y AMARILLA (en la parte superior)	(+) FLUORESCENCIA UV COLOR CELESTE Y POCO COLOR AMARILLO – Ligeramente positivo
INTERPRETACIÓN	Demuestra la presencia de flavonoides	Demuestra la presencia de flavonoides	Demuestra la presencia de flavonoides (amarillo) y clorofila (rojo)	Demuestra la presencia de flavonoides

Anexo 4. Estudio Microbiológico de *Propionibacterium acnes* con las muestras de *Schkuhria pinnata* (Lanm.) Kuntze ex Thell.

Placas de Agar sangre con discos impregnados con extractos de <i>Schkuhria pinnata</i> (Lanm.) Kuntze ex Thell en condiciones anaerobias		
Tallo		
Raíz		
Hojas		
Flores		

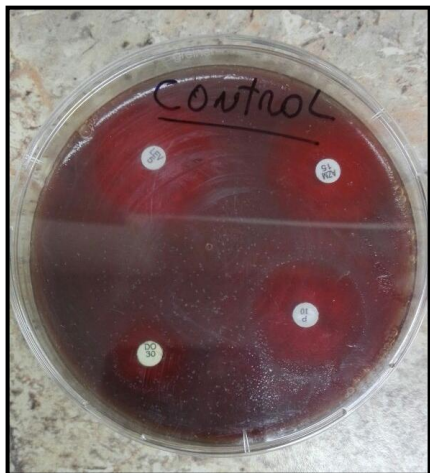
Anexo 5. Prueba de sensibilidad de *Propionibacterium acnes* con los extractos vegetales y discos de antibióticos estándar

Discos de antibióticos:

1. DO: Doxiciclina
2. P: Penicilina
3. AZM: Azitromicina
4. LEV: Levofloxacino



Preparación e incubación de las cepas y placas con medio de cultivo agar sangre de carnero



Placa Control con los discos de antibióticos estándar