

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

ESCUELA DE POST GRADO

MAESTRIA EN CIENCIAS, MENCIÓN QUÍMICA, ESPECIALIDAD PRODUCTOS
NATURALES

T003_23963486_M.PDF



“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A *Staphylococcus aureus* Y DETERMINACIÓN POR HPLC DE FLAVONOIDES DE *Stachys pusilla* (Wedd.) Briq.”

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. LELIA MARIA RODRIGUEZ TORRES

PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE:
MAGISTER EN CIENCIAS, MENCIÓN QUÍMICA
ESPECIALIDAD PRODUCTOS NATURALES

Asesora: M. Cs. Carla del Carpio Jiménez

Cusco – Perú

2016

RESUMEN

La medicina tradicional atribuye a *Stachys pusilla* (Wedd.) Briq. “Hierba de Cáncer”, múltiples propiedades medicinales, como la curación de heridas, granos infectados, caries dental, llagas y heridas infectadas en general¹.

Es importante resaltar que esta planta es usada preferentemente en heridas de difícil curación, a las cuales en quechua se les llama “cáncer”, por lo que se presume que presenta metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, tales como los flavonoides.

Los flavonoides están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y en la actualidad se consumen en la dieta diaria y se utilizan en el tratamiento de ciertas enfermedades. Los flavonoides son capaces de modular la actividad de enzimas y afectan el comportamiento de muchos sistemas de células, lo que sugiere que estos compuestos poseen significativo efecto antioxidante, antihepatotóxico, actividades antialérgicas, anti-inflamatorias, antiosteoporótico, antitumoral y antibacteriano².

El objetivo de la presente investigación fue evaluar in vitro la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70 % de *Stachys pusilla* (Wedd.) Briq. (Hierba de Cáncer) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y determinar sus flavonoides por HPLC.

La metodología utilizada en las diferentes etapas del estudio de acuerdo a los protocolos inherentes, se describen a continuación: la obtención del extracto etanólico al 70 % se realizó por maceración, el análisis fitoquímico cualitativo mediante reacciones de coloración y precipitación, la actividad antibacteriana “in vitro” se determinó mediante el método turbidimétrico y difusión en agar utilizando pozo excavado, usando agar Muller Hinton, teniendo como patrones discos de sensibilidad; Dicloxacilina (1µg) y Clindamicina (2 µg), la determinación del contenido total de compuestos fenólicos se realizó de acuerdo al método espectrofotométrico de Folin Ciocalteu, el contenido total de flavonoides se determinó de acuerdo al método espectrofotométrico desarrollado por Woisky y Salatino. La identificación y cuatificación de los principales tipos de flavonoides se realizó por espectroscopía UV/Vis y HPLC.

Dentro de los resultados obtenidos son relevantes mencionar: que el análisis fitoquímico cualitativo, mostró la presencia de abundante cantidad de flavonoides, compuestos fenólicos y resinas.

Se comprobó que el extracto etanólico al 70 % tiene actividad antibacteriana in vitro frente a cepas estándar de *Staphylococcus aureus*, con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 25 mg/mL, usando el método de pozo excavado, se determinaron como dosis efectivas 25 mg/mL hasta 1250 mg/mL.

El extracto etanólico al 70 % mostró un contenido total de polifenoles de 157.1 mg expresado como equivalentes de Ácido Gálico/ g de extracto, y un contenido de flavonoides de 77.3 mg expresado como equivalentes de Quercetina dihidratada/ g de extracto.

En la determinación de flavonoides por HPLC, se realizó la corrida de la muestra junto con los 4 patrones: rutina, quercetina, kanferol y ácido gálico, logrando una mejor resolución y separación de los picos con el sistema de elución 2: Fase Móvil: 50 mM de ácido fosfórico, pH 2,5) (solvente A), Acetonitrilo (solvente B); dando como resultado la presencia de 13 picos a 320 nm, todos los cuales presentan espectros UV característicos de flavonoles, flavonas e isoflavonas, de acuerdo a sus máximos de absorción en el rango de 320 – 370 nm (banda I) y de 240-290nm (banda II) en el espectro UV.Vis. En la cuantificación, el porcentaje de área de los flavonoides más abundantes son: el flavonoide 3 con 23.8862 %, flavonoide 4 con 13.8471 % y el flavonoide 1 con 13.2649 %.

PALABRAS CLAVES:

Stachys pusilla (Wedd.) Briq. *Staphylococcus aureus*, actividad antibacteriana, flavonoides, HPLC.