

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS:

**Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de
Otholobium pubescens “wallwa” frente al ADN de
Staphylococcus aureus. Ayacucho, 2025**

**Para optar el título profesional de:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

Bach. Maycol Javier YANASUPO CCORIMANYA

ASESORA:

Dra. Luisa NOA YARASCA

AYACUCHO - PERÚ

2026

Dedicado a mis padres Javier y Diosdada
por su apoyo y amor inconmensurable
que me brindan todos los días. A mis
hermanos que me brindaron sus
conocimientos y por su apoyo constante

AGRADECIMIENTOS

A mi *Alma Mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por ser el farol del saber. Al laboratorio del Centro de Investigación de Biología Molecular y Bioinformática de la Facultad de Ciencias Biológicas y al laboratorio de toxicología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la U.N.S.C.H. por las facilidades para realizar mi trabajo de investigación.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, así como a su plana de docentes, quienes contribuyeron en mi formación profesional.

A mis asesores la Dra. Q.F. Luisa NOA YARASCA y el Blgo. Tomás Yuret MIRANDA TOMASEVICH y la Mg. Miriam MORENO HINOJOSA por su dirección y apoyo, juntamente a mis jurados.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. DESARROLLO DE LA PERSPECTIVA TEÓRICA	5
2.1. Marco Referencial	5
2.1.1. Antecedentes Internacionales	5
2.1.2. Antecedentes Nacionales	8
2.1.3. Antecedentes Locales	10
2.2.1. <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”	13
2.2.2. Toxicidad y genotoxicidad	15
2.2.3. Ácidos Nucleicos	16
2.2.4. Cuantificación y determinación de pureza de ADN	18
2.2.5. Extracto hidroalcohólico	18
2.2.6. Evaluación genotóxica in vitro	18
2.2.7. Electroforesis en Gel	22
2.3. Marco conceptual	22
2.3.1. Ácido desoxirribonucleico	22
2.3.2. Ácido ribonucleico	22
2.3.3. Colección Americana de Cultivos Tipo	22
2.3.4. Efecto genotóxico	23
2.3.5. Extracto hidroalcohólico	23
2.3.6. In vitro	23
2.3.7. Operón	23
2.3.8. Proteínas Fijadoras de Penicilina	23
2.3.9. Topoisomerasa	23
2.3.10. Wallwa	23
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1. Alcance de Investigación	24
3.2. Diseño de Investigación	24
3.3. Unidad de Análisis	24
3.4. Población de Estudio	24
3.5. Muestra	24

3.6. Criterios de Selección	24
3.6.1. Criterios de Inclusión	24
3.6.2. Criterios de Exclusión	24
3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de datos	24
3.7.1. Lugar de ejecución para la recolección de datos	25
3.7.2. Procedimiento para la recolección de datos	25
3.8. Análisis de datos	29
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	31
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	39
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	47
CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	51
ANEXOS	57

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Ensayos de genotoxicidad <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> .	33
Figura 2 Ensayo de Kruskal-Wallis para la genotoxicidad <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”, a concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL, frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> , incubado a 37 °C durante una hora. CIBMB UNSCH. Ayacucho 2026. Prueba de Kruskal-Wallis (H = 15, GL= 3, p= 0.0 02).	35
Figura 3 Ensayos de genotoxicidad <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> .	36
Figura 4 Ensayo de Kruskal-Wallis Genotoxicidad <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”, a concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL, frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> , incubado a 37°C durante una hora. CIBMB UNSCH. Ayacucho 2026. Prueba de Kruskal-Wallis (H = 15, GL= 3, p= 0.002).	38

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Preparación de las mezclas para ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”, frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> .	28
Tabla 2 Clasificación de los niveles de fragmentación del ADN por registro visual.	29
Tabla 3 Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> "wallwa". Ayacucho, 2026.	32
Tabla 4 Grado de fragmentación de ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> frente al extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J. W. Grimes “culén” “wallwa” en el ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i> , a concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL e incubado a 37°C durante una hora.	34
Tabla 5 Grado de fragmentación de ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> frente al extracto hidroalcohólico de tallos de <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J. W. Grimes “culén” “wallwa” en el ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i> , a concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL e incubado a 37°C durante una hora.	37

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Constancia de identificación botánica de <i>Otholobium pubescens</i> "wallwa"	58
Anexo 2. Recolección de la muestra vegetal <i>Otholobium pubescens</i> "Wallwa"	59
Anexo 3. Preparación del extracto hidroalcohólico del <i>Otholobium pubescens</i> "wallwa"	60
Anexo 4. Identificación de metabolitos secundarios de los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> "wallwa".	61
Anexo 5. Protocolo de extracción de ADN genómico de <i>Staphylococcus aureus</i> .	62
Anexo 6. Proceso para la determinación del efecto genotóxico <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico del <i>Otholobium pubescens</i> "wallwa" frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> . Ayacucho, 2026.	63
Anexo 7. Prueba de Kruskal – Wallis para evaluar el grado de genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Otholobium pubescens</i> "wallwa", según la concentración del extracto, frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> incubado a 37°C durante una hora. Ayacucho, 2026.	64
Anexo 8. Prueba de Kruskal – Wallis para evaluar el grado de genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Otholobium pubescens</i> "wallwa", según la concentración del extracto, frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> incubado a 37°C durante una hora. Ayacucho, 2026.	65
Anexo 9. Bandas del marcador de tamaño molecular (1kb) del laboratorio Thermo scientific	66
Anexo 10. Matriz de Definición y Operacionalización de Variables	67
Anexo 11. Matriz de Consistencia	68

RESUMEN

Otholobium pubescens "wallwa", conocida vulgarmente como "culen", es un arbusto perenne de las tierras altoandinas del Perú con propiedades farmacológicas comprobadas, como actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, capacidad antioxidante y efecto hipoglicemiante. Sin embargo, no existe una evaluación de su potencial genotóxico *in vitro*, aspecto fundamental para garantizar su seguridad de uso. El objetivo de este estudio era determinar si el extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* «wallwa» tenía un efecto genotóxico *in vitro* sobre el ADN de *Staphylococcus aureus*. Mediante un análisis fitoquímico cualitativo se detectaron alcaloides, fenoles, taninos, flavonoides, aminoácidos, azúcares reductores, glucósidos cardiotónicos, terpenos y quinonas, tras obtener extractos hidroalcohólicos de las hojas y los tallos mediante maceración en una mezcla de etanol y agua (3:1). La evaluación de la genotoxicidad *in vitro* se llevó a cabo mediante el análisis de la fragmentación del ADN genómico del *Staphylococcus aureus* tras la exposición a diversas concentraciones del extracto. Los resultados demostraron que el extracto hidroalcohólico de tallos presentó mayor potencial genotóxico que el de hojas, induciendo una fragmentación del ADN genómico de *Staphylococcus aureus* superior al 95% en concentraciones de 50 y 100 mg/mL, mientras que el extracto de hojas provocó fragmentación del mismo ADN bacteriano en el rango de 40% a 95% bajo condiciones experimentales idénticas. En conclusión, ambos extractos de *Otholobium pubescens* "wallwa" exhibieron capacidad genotóxica para fragmentar el ADN genómico de *Staphylococcus aureus*, siendo el efecto genotóxico de tallos considerablemente superior al de hojas.

Palabras clave: genotoxicidad, *Otholobium pubescens*, ADN de *Staphylococcus aureus*, "wallwa".

ABSTRACT

Otholobium pubescens “wallwa,” commonly known as “culen,” is a perennial shrub native to the high Andean regions of Peru with proven pharmacological properties, including antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, antioxidant capacity, and hypoglycemic effects. However, there has been no evaluation of its *in vitro* genotoxic potential, a critical aspect for ensuring its safety in use. This study sought to ascertain whether the hydroalcoholic extract of *Otholobium pubescens* “wallwa” had an *in vitro* genotoxic effect on *Staphylococcus aureus* DNA. Alkaloids, phenols, tannins, flavonoids, amino acids, reducing sugars, cardiotonic glycosides, terpenes, and quinones were detected by qualitative phytochemical analysis after hydroalcoholic extracts from leaves and stems were produced by maceration in ethanol and water (3:1). By examining the fragmentation of *Staphylococcus aureus* genomic DNA following exposure to various extract concentrations, the *in vitro* genotoxicity evaluation was carried out. The results showed that the hydroalcoholic stem extract exhibited greater genotoxic potential than the leaf extract, inducing fragmentation of *Staphylococcus aureus* genomic DNA exceeding 95% at concentrations of 50 and 100 mg/mL, while the leaf extract caused fragmentation of the same bacterial DNA in the range of 40% to 95% under identical experimental conditions. In conclusion, both extracts of *Otholobium pubescens* “wallwa” exhibited genotoxic capacity to fragment the genomic DNA of *Staphylococcus aureus*, with the genotoxic effect of the stem extract being considerably greater than that of the leaf extract.

Keywords: genotoxicity, *Otholobium pubescens*, DNA of *Staphylococcus aureus*, “wallwa”.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Otholobium pubescens (Poirot) Grimes, conocida vulgarmente como “wallwa”, “culén” o “culen”, es un arbusto perenne originario de las tierras altoandinas del Perú, particularmente de la región de Ayacucho, utilizado durante siglos en medicina tradicional para tratar infecciones, procesos inflamatorios y trastornos gastrointestinales.¹ En los Andes, donde se encuentran los países como Chile, Ecuador, Bolivia y Argentina, esta planta crece tanto de forma silvestre como en cultivo. Se encuentra principalmente en valles y barrancos húmedos, a altitudes comprendidas entre los 2000 y los 3800 m.s.n.m.² Su vigencia en la práctica etnofarmacológica andina, por más de dos mil años, sugiere no solo eficacia terapéutica, sino también un perfil de tolerancia relativa en poblaciones que la utilizan tradicionalmente^{2,3}.

Investigaciones recientes han validado científicamente varias propiedades terapéuticas de *Otholobium pubescens* “wallwa”. Ventura⁴ confirmó potencial antibacteriano significativo frente al *Staphylococcus aureus* con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 1,56 mg/mL en hojas y 6,25 mg/mL en tallos, y concentraciones mínimas bactericidas (CMB) de 3,12 mg/mL y 12,5 mg/mL respectivamente. Alvarado⁵ documentó actividad antioxidante significativa con captación de radicales libres de 92.36% a 100 µg/mL, así como la actividad citotóxica comprobada. Quilla⁶ evidenció actividad antiespasmódica, particularmente a concentraciones del 30% del extracto. Caro⁷ y Solgorré⁸, demostraron efecto hipoglicemiante comprobable con metformina, reduciendo niveles de glucosa de 390 mg/dL a 223 mg/dL mediante tratamiento con extracto. Estos hallazgos demuestran que *Otholobium pubescens* posee múltiples compuestos bioactivos con capacidad de interferir en procesos patológicos diversos.

El perfil fitoquímico de *Otholobium pubescens* ha sido objeto de múltiples investigaciones que revelan variabilidad según el estudio considerado. Quilla⁶ evidenció abundancia de alcaloides, flavonoides, terpenos, cumarinas, aminoácidos y catequinas con moderada presencia de taninos; Solgorré⁸, en contraste, no obtuvo

resultados positivos en alcaloides, pero reportó leve presencia de taninos, terpenos, saponinas, flavonoides y azúcares reductores; Alvarado⁵ identificó lactonas sesquiterpénicas, taninos y alcaloides con elevada actividad antioxidante; y Caro⁷ demostró mediante cromatografía de capa fina la presencia de taninos, flavonoides y antroquinonas. Esta variabilidad intraespecífica entre estudios podría explicarse por las diferencias en el perfil fitoquímico de especies del mismo género. Por ejemplo, *Otholobium mexicanum*, según Diaz⁹, mostró resultados negativos en alcaloides y triterpenoides, abundancia en saponinas y azúcares reductores, y leve presencia de naftoquinonas, antroquinonas, antronas, flavonoides y taninos; mientras que *Psoralea glandulosa* (sinónimo de *Otholobium glandulosum*), estudiada por Cordova & Quispe¹⁰, presentó menor cantidad de terpenos y saponinas, presencia mínima de flavonoides, alcaloides, carbohidratos y cumarinas, y ausencia de quinonas, fenoles, leucoantocianidinas y antroquinonas.

Los metabolitos secundarios de *Otholobium pubescens* pueden tener efectos terapéuticos o tóxicos según la dosis empleada, el tiempo de exposición y las condiciones fisiológicas del organismo receptor. Entre estos compuestos, destacan los terpenos, como el carvacrol y el timol, conocidos por su actividad bactericida. En particular, el carvacrol presenta propiedades adicionales, como la inhibición de la proliferación de células de adenocarcinoma y la generación de efectos genotóxicos asociados a la producción de especies reactivas de oxígeno y a la reducción de los niveles de glutatión.^{11,12} Otro grupo de metabolitos secundarios de gran relevancia son los alcaloides. Entre ellos, la isoconkuressina y la N-formilconessimina han demostrado actividad antibacteriana intrínseca frente al *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina, así como frente a cepas resistentes. No obstante, algunos alcaloides, como los de tipo pirrolizidina, presentan efectos genotóxicos que pueden generar daño en humanos, manifestándose como formación de aductos de ADN, entrecruzamientos de ADN, rupturas de cadena, intercambio de cromátidas hermanas, formación de micronúcleos, aberraciones cromosómicas y diversas mutaciones genéticas y cromosómicas tanto *in vivo* como *in vitro*.^{13,14} Adicionalmente, la revisión sistemática de Bardoloi & Soren¹⁵, identificó más de 50 especies de plantas con potencial genotóxico, destacando que la familia Fabaceae a la cual pertenece *Otholobium pubescens* presenta frecuentemente metabolitos secundarios con esta característica. Entre los compuestos genotóxicos documentados en familias relacionadas se encuentran alcaloides pirrolizidínicos, alil tiocianato, ácido aristolóchico (carcinógeno

humano reconocido), propenilbenceno, hidrazina, antroquinonas, isotiocianatos, flavonoides, cumarinas y psoralenos.¹⁵

A pesar de los antecedentes mencionados, no se han realizado estudios de genotoxicidad específicos para *Otholobium pubescens* "wallwa", lo que representa un vacío importante en el conocimiento de su perfil de seguridad. Aunque se conoce su actividad antibacteriana, identidad fitoquímica y otras propiedades terapéuticas, su potencial para inducir daño génico permanece completamente inexplorado. La evaluación de genotoxicidad es indispensable porque permite diferenciar entre metabolitos cuyas propiedades beneficiosas son auténticas de aquellos que podrían representar un riesgo oculto para la salud en condiciones de uso prolongado. Un modelo de este enfoque lo constituye *Fabiana punensis*, especie también utilizada en medicina tradicional andina, en la cual no se evidenció toxicidad ni genotoxicidad en las cepas *Salmonella typhimurium* TA98 y TA100, incluso a concentraciones de hasta 1000 µg/placa, tanto con activador externo como sin él, este resultado permitió respaldar científicamente el uso seguro de la planta.¹⁶ De manera similar, evaluar la genotoxicidad de *Otholobium pubescens* proporcionaría validación científica de su seguridad o, en su defecto, identificaría metabolitos de riesgo que requerirían restricciones de uso.

La evaluación de la genotoxicidad en productos naturales es fundamental: porque permite determinar si un extracto vegetal puede dañar al ADN, lo que podría derivar en mutaciones o alteraciones cromosómicas en usuarios¹⁷; garantizar el conocimiento de las concentraciones que manifiestan genotoxicidad con el fin de establecer márgenes de seguridad; orientar a futuras investigaciones que realicen aislamiento selectivo de metabolitos y la eliminación de aquellos que presentan efecto genotóxico.

Para la evaluación del efecto genotóxico en productos naturales existen diversos enfoques metodológicos internacionalmente validados, las pruebas *in vitro* incluyen ensayos de aberraciones cromosómicas, micronúcleos, síntesis no programada de ADN y electroforesis celular (ensayo cometa).¹⁸ Entre estos, el ensayo cometa destaca como herramienta rápida, sensible y de bajo costo.

El presente estudio empleó el método "Tomasevich", desarrollado por Miranda¹⁹ como una variante del ensayo cometa que representa una herramienta de utilidad en contexto de investigación con recursos limitados. Este método facilita la visualización directa de la fragmentación del ADN mediante electroforesis en gel,

permitiendo obtener resultados cualitativos y cuantitativos de forma rápida. Su procedimiento es sencillo: el ADN genómico extraído se expone a diferentes concentraciones del extracto, se incuba a 37°C, y se somete a electroforesis en gel de agarosa seguido de un lavado con bromuro de etidio. Los fragmentos de ADN, si existen, migran diferencialmente bajo el campo eléctrico, pudiendo visualizarse mediante radiación ultravioleta. La intensidad de fluorescencia es directamente proporcional a la cantidad de ADN presente e integro; si el ADN está fragmentado, la fluorescencia disminuye.

Aunque el método “Tomasevich” no constituye un método estandarizado por organismos regulatorios internacionales, sí cuenta con reconocimientos en el 2do Congreso Latinoamericano de Farmacogenética y Medicina Personalizada realizada en Durango (México) y el 5to Congreso Internacional de Farmacología de Productos Naturales “FAPRONATURA 2018” dado en Topes de Collantes (Cuba). Entre sus principales ventajas destaca la capacidad de detectar daño en el ADN de forma rápida y sensible. Asimismo, su costo es relativamente bajo en comparación con otros ensayos y no requiere equipamiento altamente especializado.

En este marco, el presente estudio planteó la siguiente pregunta de investigación general: ¿Los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” tendrán efecto genotóxico *in vitro* frente al ADN cromosómico de *Staphylococcus aureus*? Por tanto, el objetivo general es determinar la genotoxicidad *in vitro* en los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente al ADN de *Staphylococcus aureus*. Los objetivos secundarios planteados son:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* “wallwa”.
- Evaluar la genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente al ADN de *Staphylococcus aureus*.
- Evaluar la genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente al ADN de *Staphylococcus aureus*.

CAPÍTULO II. DESARROLLO DE LA PERSPECTIVA TEÓRICA

2.1. Marco Referencial

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Díaz⁹, en el año 2025, realizó el trabajo titulado: “Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Otholobium mexicanum* (Trinitaria) y evaluación de su actividad biológica y antioxidante” con el objetivo de evaluar la actividad biológica y la capacidad antioxidante de los extractos de *Otholobium mexicanum*. Para ello se emplearon técnicas de tamizaje fitoquímico mediante reacciones químicas, la evaluación de DPPH, por otra parte, la actividad biológica a través de pruebas bactericidas (CMB, curva de letalidad y actividad bactericida del suero). Para el proceso de extracción usaron acetato de etilo, etanol y etanol: agua por separado. Los resultados del tamizaje fitoquímico dieron negativo en alcaloides; sin embargo, confirmaron la presencia de azúcares reductores, saponinas, naftoquinonas, antraquinonas y antronas, flavonoides y taninos, notablemente, solo el extracto etanólico dio positivo en triterpenos y esteroides. Respecto a la actividad antimicrobiana, los resultados demostraron que ambos extractos (acetato de etilo y etanol) presentan potencial inhibitorio. Para *Staphylococcus aureus*, que la CMI fue de 30 µg/mL en ambos extractos, mientras que la CMB fue de 60 µg/mL, en caso de *Escherichia coli*, se identificaron CMI de 15 µg/mL (acetato de etilo) y 7,5 µg/mL (etanol) y CMB de 60 µg/mL en ambos extractos. El estudio concluyó que los extractos de Trinitaria, especialmente obtenidos con acetato de etilo y etanol, demostraron actividad antioxidante y antimicrobiana significativa frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 8739 y *Escherichia coli* ATCC 65380.

Espinoza & Heredia²⁰, en el año 2023, realizaron la investigación titulada: “Evaluación toxicológica de los extractos metanólicos de *Peperomia sp* y *Otholobium mexicanum* mediante la técnica aguda en embriones de peces en el modelo de *Danio rerio*” con el objetivo de evaluar la toxicidad de los extractos de dos plantas medicinales *Peperomia sp* y *Otholobium mexicanum*. La metodología se basó en el protocolo de prueba de toxicidad aguda en embriones de pez cebra (FET) propuesto por

la Organización para la cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE). Para *Otholobium mexicanum* los resultados revelaron alta toxicidad: a las 48 horas post-fertilización (hpf), la concentración alta ensayada (12.5 µg/mL) indujo 100% de letalidad, mientras que las dos primeras concentraciones probadas presentaron letalidad superior al 50%. Respecto a la teratogenicidad, se observó una tendencia variable según el tiempo de exposición. A las 24 hpf, los embriones expuestos a 12.5 µg/mL mostraron teratogenicidad de 91.67%, caracterizada principalmente por retraso de crecimiento. Sin embargo, estos embriones murieron antes de las 48 hpf, impidiendo la evaluación de otros criterios teratogénicos en esta concentración. Concluyó que la concentración *Peperomia sp.* y *Otholobium mexicanum* presentaron concentraciones letales medianas (CL₅₀) de 4.7556 µg/mL y 5.0282 µg/mL, respectivamente; ambas plantas cumplían todos los criterios de teratogenicidad establecidos.

Bardoloi & Soren¹⁵, en el año 2022, realizaron el trabajo titulado: “Genotoxicidad inducida por plantas medicinales” cuyo objetivo fue sintetizar los conocimientos con respecto a la genotoxicidad de las plantas medicinales. La metodología empleada fue la revisión sistemática de estudios de genotoxicidad *in vivo* e *in vitro* en plantas medicinales, incluyendo el ensayo cometa, prueba de micronúcleos (MN), prueba ames (BRM), aberración cromosómica (ChA), prueba de *Allium cepa* (ACTA), ensayo Vitotox (VA), ensayo western (WA), linfoma de ratón tk e inducción lisogénica (LI). Los resultados identificaron más de 50 especies de plantas con potencial genotóxico, las familias frecuentemente asociadas con este efecto fueron Fabaceae, Asteraceae, Rosaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae y Apocynaceae; en cuanto a los compuestos responsables, se documentaron alcaloides pirrolizidínicos, alil tiocianato, ácido aristolóxico (carcinógeno humano), propenilbenceno, hidrazina, antraquinonas, isotiocianatos, flavonoides, cumarinas y psoralenos. Concluyendo que la genotoxicidad no se restringe a una familia botánica en particular, sino que múltiples familias especialmente Fabaceae y Asteraceae presentan frecuentemente compuestos genotóxicos, por tanto, se destaca la necesidad de evaluar sistemáticamente la genotoxicidad de plantas terapéuticas antes de su uso en medicina.

Cuesta & Mogrovejo²¹, en el año 2020, desarrollaron la investigación: “Evaluación del método y solvente de extracción más eficientes para la obtención de metabolitos secundarios responsables de una actividad antioxidante y antibacteriana de 9 plantas medicinales en la ciudad de Cuenca-Ecuador” y su objetivo principal es evaluar la mejor técnica de extracción y el mejor disolvente para aislar metabolitos

secundarios con propiedades antibacterianas y antioxidantes de las 9 plantas medicinales en la ciudad de Cuenca-Ecuador. Las actividades antioxidantes se evaluaron mediante las técnicas DPPH y FRAP, y la actividad antibacteriana mediante microdilución en placa. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y Kruskal–Wallis en las pruebas antioxidantes, y chi-cuadrado en la antibacteriana. Las concentraciones mínimas inhibitorias del extracto metanólico de *Otholobium mexicanum* fueron de 16 µg/mL para los métodos de homogenización, sonicación y percolación, mientras que el extracto obtenido por maceración mostró una CMI mayor a 64 µg/mL, considerándose inactivo. Concluyendo que las mayores actividades antioxidantes de las nueve plantas se lograron con metanol al 100 % y por el método de homogenización, tanto en DPPH como en FRAP, respecto a la actividad antibacteriana, los extractos metanólicos obtenidos por los distintos métodos fueron inactivos contra *S. aureus* ATCC 25923, excepto en el caso de *O. mexicanum*, cuyos extractos (a excepción que el obtenido por maceración presentaron una actividad antibacteriana limitada).

Ramírez & Prieto²², en el año 2019, ejecutaron la investigación titulada: “Evaluación del halo de inhibición de la planta *Otholobium mexicanum* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923” y su objetivo principal es evaluar las propiedades antibacterianas de la planta *Otholobium mexicanum* frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se empleó el método de difusión en disco, donde la cepa bacteriana se sembró masivamente en agar BHI y se estandarizó con el factor McFarland. Se aplicaron ocho diluciones del extracto, junto con clindamicina como control positivo y etanol y agua destilada como controles negativos, impregnando discos de 6 mm y realizando tres repeticiones por tratamiento. En los resultados se aprecia que la dilución de 10 000 µg/mL con una eficacia del 88,1 %, fue el más similar a la clindamicina y un 28,7 % más eficaz que el extracto puro. Concluyendo, donde la diferencia de la CMI de la clindamicina, que es de 0,5 µg/mL, el extracto vegetal presenta una fuerte actividad antibacteriana con una CMI de 0,1 µg/mL.

Sponchiado et al²³, en el año 2016, realizaron una revisión titulada “ensayos cuantitativos de genotoxicidad para el análisis de plantas medicinales: una revisión sistemática” y teniendo por objetivo principal explorar los ensayos de genotoxicidad más utilizados y compararlos con los requisitos legales vigentes. En materiales y métodos realizaron una revisión sistemática cuantitativa de la literatura usando palabras claves de “plantas medicinales”, “mutagenicidad” y “genotoxicidad”, por medio de ello identificaron ensayos más utilizados para evaluar la genotoxicidad. Entre los resultados

un total 458 registros cumplen con criterios de inclusión, identificaron 24 ensayos diferentes utilizados para evaluar la genotoxicidad de extractos medicinales y el 28,4% reportan resultados positivos de genotoxicidad. Concluyendo que se utilizan diversos métodos de ensayo de genotoxicidad para determinar el potencial genotóxico de los extractos de plantas medicinales; sobre los posibles efectos genotóxicos de una planta es importante incluir pruebas bacterianas y en mamíferos, con al menos un ensayo *in vivo*.

Bussmann, et al²⁴, en el año 2011, realizaron el estudio: “Toxicidad de las plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional en el norte del Perú” y presenta como objetivo determinar la toxicidad de extractos etanólicos y acuosos de 341 especies de plantas utilizando un ensayo con *Artemia salina*. Se empleó el ensayo de letalidad en *Artemia salina* para determinar la citotoxicidad de los extractos vegetales. Los extractos se evaluaron en un rango de concentraciones de 31,25 a 1000 µg/mL, además de los grupos controles (controles con agua salada y con etanol al 96 %). Se colocaron diez larvas en cada vial usando una pipeta de punta ancha para evitar daños, tras 24 h se registró la supervivencia bajo estereomicroscopio y se calculó la mortalidad. Los resultados promedio de mortalidad de *Artemia salina* se graficaron frente a los logaritmos de las concentraciones utilizando la herramienta de análisis Probit del paquete estadístico NCSS. A partir de estos resultados, se calculó la concentración letal media (CL50) con intervalos de confianza (IC) del 95%, según el método de Finney. Destacando que en este estudio está la especie de *Otholobium glandulosum* (L.) Grimes que presenta LC50 del extracto acuoso y LC50 del extracto de etanol son >1000 µg/mL y 271 µg/mL respectivamente. Concluyendo que más del 24% de los extractos acuosos y el 76% de los extractos alcohólicos mostraron niveles elevados de toxicidad para la *Artemia salina*.

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Cordova & Quispe¹⁰, en el año 2023, desarrollaron el trabajo de investigación: “Caracterización fitoquímica y capacidad antioxidante de extracto hidroalcohólico y acuoso del colen (*Psoralea glandulosa*)” y su objetivo central es determinar las propiedades fitoquímicas y la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas colén (*Psoralea glandulosa*). La metodología es un estudio de diseño experimental. Su nivel de investigación (explicativo y descriptivo), la marcha fitoquímica para el extracto acuoso (ensayo de cloruro férrico, ensayo de Fehling,

ensayo de espuma, ensayo de Shinoda y ensayo de Dragendorff), el tamizaje fitoquímico para el extracto hidroalcohólico (ensayo de Fehling, ensayo de Dragendorff, ensayo de cloruro férrico, ensayo de catequinas, ensayo de ácido sulfúrico, ensayo de Shinoda y ensayo de resinas), en la determinación de la actividad antioxidante se usó DPPH y en el análisis estadísticos (ANOVA, Shapiro wilk y prueba T). En resultados, los extractos hidroalcohólicos y acuosos presentaron distribuciones de datos diferentes, y el grupo acuoso mostró un porcentaje de inhibición altamente significativo ($p = 0,00000174$, prueba t pareada). Cabe destacar que el extracto acuoso presentaba niveles más elevados de fenoles, flavonoides, taninos y alcaloides que el extracto hidroalcohólico. Concluyendo, donde el análisis de las propiedades fitoquímicas del colén (*Psoralea glandulosa*) reveló que el extracto acuoso presenta actividad antioxidante en comparación con el extracto hidroalcohólico, así como fenoles, flavonoides y taninos.

Alvarado⁵, en el año 2017, desarrolló el trabajo de investigación: “Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la Cordillera Negra” y su objetivo principal era determinar las propiedades citotóxicas y antioxidantes de las hierbas medicinales. En el estudio se emplearon tanto diseños no experimentales (cuestionarios sobre conocimientos percibidos) como diseños experimentales (análisis fitoquímico, actividad antioxidante a 100, 50 y 25 $\mu\text{g/mL}$, y actividad antioxidante a 166 y 333 g/mL). Una de estas especies es *Otholobium pubescens*, que presenta niveles muy abundantes (compuestos fenólicos, lactonas sesquiterpénicas y taninos), moderados (flavonoides) y bajos (taninos) de contenido fitoquímico. Los hallazgos más importantes son que la población local posee conocimientos tradicionales sobre las especies estudiadas. A 100 $\mu\text{g/mL}$ y 50 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, el «culén» presenta una actividad de eliminación de radicales libres (FRSA) del 92,36 % y del 25,72 %. En conclusión, valoró el conocimiento etnofarmacológico de la Cordillera Negra; la investigación fitoquímica reveló la existencia de metabolitos secundarios, y la mayoría de las plantas presentan una acción citotóxica y antioxidante.

Caro⁷, en el año 2012, realizó la investigación: “Estudio del efecto hipoglicemiante del extracto metanólico de *Otholobium Pubescens* (Poiret) Grimes “culén” en Ratas Wistar. Arequipa-2010” y cuyo objetivo principal es estudiar el efecto hipoglicemiante de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” frente a la metformina. En la metodología para el análisis fitoquímico, empleó identificación cromatográfica en capa fina, reactivos (cloruro férrico, cloruro de aluminio y ácido

sulfúrico concentrado) e identificación de saponinas (prueba de espuma); la medición de la glicemia utilizó un glucómetro AccuCheK Active. Las pruebas estadísticas el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba Tukey. Las concentraciones promedio de glucosa al grupo que se les administró el extracto alcohólico del “culén” del día 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 son 381,14; 374,57; 335,14; 291,43; 265,43; 227,57; 187,71 mg/dL respectivamente. Concluyó que la administración del extracto alcohólico de *Otholobium pubescens* tiene efecto hipoglicemiante y comparado con la metformina tiene mejor resultado.

Solgorré⁸, en el año 2005, ejecutó la investigación denominada: “Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Otholobium pubescens* en la hipoglicemia experimental en *Rattus norvegicus* var. Albinus” y el objetivo principal fue determinar el efecto hipoglicemiante de la administración oral del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes. Realizaron la marcha fitoquímica, el bioensayo de toxicidad en *Artemia salina*, la determinación de la DL50 y finalmente el ensayo farmacológico. Para este último, se indujo hipoglicemia experimental en 40 ratas Sprague Dawley mediante la administración de aloxano a 160 mg/kg de peso corporal. Posteriormente, se administró a los animales un extracto de hojas y flores de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes a una dosis de 500 mg/kg. Como resultado, tras 33 días con el extracto, se redujo los niveles de glucosa en sangre de $390,2 \pm 8,59$ mg/dL a $223,4 \pm 10,24$ mg/dL.

2.1.3. Antecedentes Locales

Ventura⁴, en el 2025, realizó la investigación titulada: “Actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* «wallwa» frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ayacucho, 2025” y tiene como objetivo comprobar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La preparación de los extractos acuosos y alcohólicos colocaron 400 g de polvo seco en etanol o agua como corresponda. Se preparó el medio de cultivo (Müller-Hinton), se inocularon las placas y se evaluaron estas últimas utilizando un calibre Vernier automático para medir el diámetro de las zonas de inhibición. La planta es la unidad de análisis, el diseño de la investigación es cuasi-experimental y las pruebas estadísticas empleadas son el ANOVA y la prueba t de Dunnet. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico tiene actividad antibacteriana frente al *Staphylococcus aureus*, no mostraron actividad antibacteriana en el extracto acuoso; también obtuvieron la

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima bacteriana (CMB) frente *Staphylococcus aureus* ATCC25923 al de las hojas son 1,56 mg/mL y 3,12 mg/mL, y en los tallos 6,25 mg/mL y 12,5 mg/mL respectivamente.

Rivera²⁵, en el año 2023, elaboró el trabajo de investigación: “Efecto genotóxico del extracto hidroalcohólico mixto de *Cinchona spp.*, *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* frente al ADN de *Escherichia coli*” y su objetivo principal es determinar la genotoxicidad del extracto hidroalcohólico mixto de corteza de *Cinchona spp.*, hojas de *Eucalyptus globulus* y del rizoma *Zingiber officinale* frente al ADN genómico de *Escherichia coli*. La metodología incluyó la identificación fitoquímica y la evaluación de genotoxicidad *in vitro* mediante el método de “Tomasevich”. Para la caracterización fitoquímica se aplicaron diversos ensayos (cloruro férrico, gelatina al 1 %, Shinoda, Mayer, Dragendorff, Wagner, Fehling, Benedict, ninhidrina, Liebermann–Burchard, Kedde, Baljet y espuma). La prueba de genotoxicidad comprendió la preparación y cuantificación del ADN genómico, el ensayo del extracto hidroalcohólico mixto, la exposición a radiación UV, la visualización del daño y la clasificación del efecto genotóxico según el ensayo cometa, por otro lado, en el análisis estadístico se realizó evaluación de Kruskal–Wallis. Los resultados mostraron mayor presencia de fenoles y azúcares reductores en el extracto, y un efecto genotóxico elevado, evidenciado por más del 95 % de fragmentación de ADN a una concentración de 100 mg/mL. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico mixto presentó un efecto genotóxico *in vitro* frente al ADN genómico de *Escherichia coli*.

Cervantes²⁶, en el año 2023, realizó la investigación: “Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Ricinus communis* “higuerilla” frente al ADN de *Escherichia coli*. Ayacucho, 2023.”, utilizó la técnica “Tomasevich” es una modificación del “ensayo cometa” permitió demostrar el impacto genotóxico del extracto sobre el ADN genómico en condiciones de laboratorio. Las muestras se incubaron entre 1 y 4 horas para favorecer la interacción del extracto con el ADN y luego se sometieron a electroforesis en gel de agarosa al 1 % con bromuro de etidio, aplicando 40 V durante 180 minutos. Este proceso separó los fragmentos de ADN según su tamaño, los cuales se visualizaron bajo luz UV. Las bandas obtenidas se compararon con el control y el blanco para determinar la presencia de fragmentación y, por tanto, el efecto genotóxico del extracto. La electroforesis en gel de agarosa se confirmó como una herramienta eficaz y segura para analizar la integridad del ADN y detectar daños inducidos por agentes genotóxicos. Para concluir, que el extracto hidroalcohólico de

las semillas de *Ricinus communis* "higuerilla", a distintas concentraciones, mostró un efecto genotóxico. La concentración que mostró más porcentaje de fraccionamiento fue la de 100 mg/mL, con más del 95%, mientras que el extracto hidroalcohólico de hojas tuvo un porcentaje mayor de fraccionamiento entre el 20 y el 40% a 100 mg/mL.

Rondinel²⁷, en el año 2018, efectuó la investigación: "Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels "nogal" frente a ADN genómico humano y de *Staphylococcus aureus*. Ayacucho, 2018" y el objetivo principal de este estudio es evaluar los efectos genotóxicos *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels "nogal" sobre el *Staphylococcus aureus* y el ADN genómico humano. La genotoxicidad *in vitro* se evaluó mediante el método "Tomasevich" y un muestreo aleatorio básico. Tras el análisis fitoquímico, el extracto se obtuvo mediante maceración en una mezcla de etanol y agua (3:1). Se utilizaron ADN genómico humano y bacteriano como materiales de ensayo en el experimento de genotoxicidad, que se llevó a cabo con dosis de 5, 10, 25, 50 y 100 mg/mL. Se utilizó bromuro de etidio al finalizar la electroforesis en gel de agarosa para cuantificar el daño genético. Se comprobó que el extracto contenía flavonoides, compuestos fenólicos, cardenólidos y alcaloides. La genotoxicidad mostró una relación dosis-respuesta lineal, con los mismos efectos en ambos tipos de ADN: se fragmentó menos del 5 % del ADN a concentraciones de 5-10 mg/mL, entre el 5 % y el 20 % a 25 mg/L, entre el 40 % y el 95 % a 50 mg/mL, y más del 95 % a 100 mg/mL. En conclusión, a dosis de 5 y 10 mg/mL, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels "nogal" produjo resultados idénticos tanto con el ADN genómico humano como con el ADN de *Staphylococcus aureus*.

Quilla⁶, en el año 2013, desarrolló la investigación: "Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes «wallwa»" y, en términos generales, determinar las propiedades antiespasmódicas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes, «wallwa». Utilizando un quirógrafo automatizado Panlab Harvard y el método de Magnus modificado en íleon aislado de rata, se añadieron 0,5 ml de acetilcolina a una concentración de 2×10^{-1} M y se observó la muestra durante 20 minutos. A continuación, se añadieron 0,5 ml de acetilcolina al baño, que permaneció en contacto con el íleon durante 5 minutos. Por último, se añadieron 0,5 ml de atropina y extractos hidroalcohólicos al 15 %, al 20 % y al 30 % a los cinco grupos experimentales. Con la atropina, las concentraciones máximas fueron de 2,14 mm; con el extracto al 15 %, 12

fueron de 2,68 mm al 20 % y de 2,36 mm al 30 %. La atropina provocó una contracción, el extracto al 15 % provocó 17,8, el extracto al 20 % provocó 8,4 y el extracto al 30 % provocó 4,2. En conclusión, la mayor eficacia antiespasmódica la presenta un extracto hidroalcohólico al 30 % de hojas de *O. pubescens*.

2.2. Marco teórico

2.2.1. *Otholobium pubescens* “wallwa”

A. Clasificación taxonómica

Para la identificación botánica se utilizó el sistema de clasificación APG IV 2016 a cargo de la Blga. Laura Aucasime Medina (Anexo 1), de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga:

Orden:	Fabales
Familia:	Fabaceae
Género:	<i>Otholobium</i>
Especie:	<i>Otholobium pubescens</i>
Nombre Vulgar:	“wallwa”, “culén”

B. Nombres Vernáculos

Otholobium pubescens, conocida también como “wallwa”, “culén”, “culé” o “hierba de San Agustín”.²

C. Descripción botánica

Arbusto erecto y muy ramificado que alcanza una altura de entre 1.5 y 3 metros; posee tallos aéreos semileñosos, de tonalidad blanquecina y cubiertos por una densa pubescencia.⁷ Sus hojas son compuestas y trifoliadas, con un aroma característico, y presentan folíolos de forma oblongo-lanceolada, de borde entero, que miden entre 5 y 8 cm de largo por 1.5 a 2.5 cm de ancho, con pubescencia y tricomas largos en el nervio del envés.⁷ Las flores son diminutas, de color azul-lila, miden entre 10 y 12 mm de largo y tienen una corola de cinco lóbulos en forma de mariposa (papilionada). Se agrupan en racimos largos y axilares de entre 10 y 15 cm de largo, con pedúnculos densamente cubiertos de pelos.⁷ El fruto se describe como una legumbre seca, pequeña, ovalada, acuminada e indehiscente, que encierra una sola semilla.⁷

D. Hábitat y Distribución

Esta planta se encuentra en Chile, Ecuador, Bolivia, Argentina y la zona andina de Perú, donde crece tanto de forma silvestre como en cultivo.³ Crece mejor a altitudes comprendidas entre los 2.000 y los 3.800 metros sobre el nivel del mar, en valles y

barrancos húmedos de las estribaciones de los Andes, así como en matorrales, bosques nubosos y páramos.³

E. Composición química

El *Otholobium pubescens* contiene: taninos, furocumarinas, terpenoides, antraquinonas, saponinas y flavonoides.⁷ Destaca un terpenoide presente en esta especie al cual se le ha demostrado la propiedad hipoglicemiante este compuesto es Bakuchiol.^{7,8}

F. Género *Staphylococcus*

a) Características microbiológicas

El género *Staphylococcus* son cocos Gram positivos de aproximadamente 0,5 a 1,0 µm de diámetro.²⁸ Crecen en racimos, pares y, ocasionalmente, en cadenas cortas. Los estafilococos se dividen en dos planos para formar agrupaciones.²⁸ La disposición de los cocos ayuda a diferenciar entre los estreptococos, que suelen formarse en cadenas, y los micrococos y los estafilococos. Dado que los estreptococos cultivados en medios sólidos pueden aparecer como agregados, las observaciones deben realizarse en cultivos en caldo; antes de determinar si se trata de agregados o de cadenas, deben examinarse varios campos.²⁸

b) Taxonomía

La taxonomía del *Staphylococcus aureus* es:²⁹

Dominio:	Bacteria
Filo:	Firmicutes
Clase:	Bacilli
Orden:	Baciliales
Familia:	Staphylococcaceae
Género:	<i>Staphylococcus</i>
Especie:	<i>Staphylococcus aureus</i>

c) Mecanismo de resistencia

Los mecanismos de resistencia a Betalactámicos del *Staphylococcus aureus*:³⁰

- Producción de la proteína fijadora de penicilina PBP2 A.
- Mutaciones en los genes PBP.
- Producción de betalactamasa con espectro de sustrato reducido, resistencia a glucopéptidos.

- Operón VanA modificación al sitio de unión del antibiótico. Resistencia al Linezolid.
- Modificación del ARNr 23S del ribosoma bacteriano por la adenilil-N-Metiltransferasa, resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas.
- Metilación del ribosoma por eritromicina, resistencia a aminoglucósidos.
- Inactivación de antibiótico por transferasas, resistencia a fluoroquinolonas.
- Mutaciones en los genes de Topoisomerasa II y Topoisomerasa IV, modificación del sitio de unión del antibiótico.
- Eliminación de la célula bacteriana por la bomba de flujo.

d) Tratamiento

Las infecciones adquiridas fuera del ámbito hospitalario suelen tratarse con β -lactámicos resistentes a la penicilinas. Las infecciones nosocomiales a menudo están causadas por cepas resistentes a los antibióticos y solo pueden tratarse con vancomicina.²⁸

e) Cepas ATCC

Son cepas de referencia liofilizadas que contienen una sola cepa de microorganismo, con la finalidad de ser utilizadas solo para investigación y son comercializadas por el ATCC.

2.2.2. Toxicidad y genotoxicidad

A. Toxicidad

Es el grado en que un organismo puede sufrir daños a causa de una sustancia química. Puede referirse al efecto sobre un organismo completo, como un animal, una bacteria o una planta, así como al efecto sobre una parte del organismo, como una célula (citotoxicidad) o un órgano, como el hígado (hepatotoxicidad).³¹

B. Genotoxicidad

Es la capacidad de las sustancias químicas para dañar la información genética de una célula, lo que provoca mutaciones que pueden derivar en tumores malignos. Las sustancias genotóxicas dañan el material genético celular mediante interacciones con la secuencia y la estructura del ADN.³²

C. Mecanismo de genotoxicidad

Las sustancias genotóxicas pueden producir daño en el ADN de distintas maneras. Algunas interactúan directamente con la molécula formando aductos o

enlaces cruzados, mientras que otras generan efectos indirectos, como estrés oxidativo o alteraciones en los mecanismos celulares de reparación. En cambio, las sustancias genotóxicas “no reactivas al ADN” producen daño al ADN a través de mecanismos indirectos, por ejemplo, mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) o interfiriendo con componentes celulares implicados en el mantenimiento de la estabilidad genómica, la integridad cromosómica o el funcionamiento del huso mitótico.³³

2.2.3. Ácidos Nucleicos

Son macromoléculas formadas por nucleótidos que intervienen en la capacidad de la célula para almacenar material genético y producir proteínas. Dependiendo del componente de azúcar de la molécula, las células suelen contener ácido ribonucleico (ARN) o ácido desoxirribonucleico (ADN).³⁴

A. Estructura de los ácidos nucleicos

Su estructura está conformada por bases nitrogenadas, azúcar pentosa y fosfato inorgánico.³⁵

a) Azúcar pentosa

Un anillo de azúcar de cinco carbonos, este difiere en ADN y ARN. Se encuentra la desoxirribosa y la ribosa respectivamente.³⁶

b). Base nitrogenada

Son compuestos heterocíclicos aromáticos planos que absorben la luz ultravioleta. Se encuentran dos tipos diferentes, derivadas de la pirimidina y de la purina.³⁵

Bases Purínicas

Son las bases nitrogenadas de nueve carbonos formadas por doble anillo de adenina y guanina.³⁶

Bases Pirimidínicas

Son las bases nitrogenadas de seis carbonos por simple anillo de timina, uracilo y citosina.³⁶

Ácido fosfórico

También conocido como ácido orto fosfórico, es un ácido triprótico que se presenta como un líquido denso.³⁷

B. Importancia de los ácidos nucleicos

Entre las múltiples funciones de los ácidos nucleicos están:³⁸

- Almacenamiento de información genética.

- Manual de instrucciones para la vida.
- Herencia y replicación.
- La síntesis de proteínas.
- Regulación de expresión génica.
- Desarrollo y diferenciación celular.

C. Ácido desoxirribonucleico (DNA o ADN)

El ADN es una molécula fundamental en las células, ya que contiene la información genética necesaria para su funcionamiento y reproducción. El genoma es el conjunto completo de moléculas de ADN dentro del organismo; en los humanos, este conjunto comprende el ADN presente en los 23 pares de cromosomas del núcleo, además del genoma mitocondrial, relativamente pequeño. Dado que cada progenitor aporta un conjunto de cromosomas, los seres humanos tienen un genoma diploide. El desarrollo normal y el mantenimiento de la vida dependen de un genoma diploide completo y funcional.^{35,36,38}

D. Ácido ribonucleico (RNA o ARN)

Otra clase importante de ácidos nucleicos es el ARN, cuyas funciones en la célula vienen determinadas por los distintos tipos de ARN. En teoría, el ARN es comparable al ADN, ya que se trata de una cadena similar de monómeros. Sus componentes básicos son los nucleótidos, que contienen una base nitrogenada, un fosfato y un azocarbonato con cinco átomos de carbono. La base nitrogenada se encuentra en el carbono 1 y el fosfato en el carbono 5' de la ribosa. La adenina, la guanina, la citosina y el uracilo son las cuatro bases nitrogenadas que se encuentran en el ARN. El ARN se descompone más fácilmente que el ADN, y las moléculas de ARN no forman estructuras secundarias estables; más adelante se examinarán varias excepciones notables.^{36,38,39}

E. Tipos de ARN

a) ARN mensajero (ARNm o RNAm)

Contiene la información genética necesaria para la síntesis de proteínas y se transcribe a partir del ADN. El ARNm de los procariotas puede sintetizar proteínas de forma inmediata y no requiere ningún procesamiento. En los eucariotas, un ARN recién transcrito se considera pre-ARNm y debe madurar para convertirse en ARNm.³⁹

b) ARN de transferencia (ARNt o tRNA)

Las moléculas de ARNt traducen el ARNm en proteínas. Tienen una estructura en forma de trébol compuesta por un sitio receptor (3'), un fosfato terminal (5'), un brazo D, un brazo T y un brazo anticodón. Con la ayuda de la aminoacil-ARNt sintetasa, la función principal de un ARNt es transportar aminoácidos desde su sitio de unión 3' hasta un complejo ribosómico.³⁹

c) ARN ribosómico o ribosomal (ARNr o RNAr)

Los ribosomas, que son esenciales para la síntesis de proteínas, están formados por el ARNr. En un ribosoma hay dos subunidades ribosómicas: una mayor y otra menor. En los procariotas, un ribosoma 70S está compuesto por una subunidad ribosómica pequeña (30S) y una subunidad ribosómica grande (50S). Las subunidades 40S y 60S forman un ribosoma 80S en los eucariotas.³⁹

2.2.4. Cuantificación y determinación de pureza de ADN

Luego de la obtención del material genético, es fundamental determinar el rendimiento a través de la espectrofotometría. La ley de Beer-Lambert establece que la concentración de una molécula en solución se halla supeditada a la cantidad de luz que las moléculas disueltas absorben. Una característica única del ADN es que permite calcular su concentración a través de espectrofotometría, ya que absorbe la luz ultravioleta (UV) a 260 nm.

Se mide la absorbancia a 260 y 280 nm para evaluar la pureza del ADN. Se considera que el ADN puro tiene una relación de 1,8; una relación inferior sugiere la presencia de proteínas. Otro parámetro para confirmar la pureza de los ácidos nucleicos es la relación 260/280. Se considera adecuado un valor comprendido entre 2,0 y 2,2; un valor inferior a este rango sugiere la presencia de contaminantes como el fenol o los carbohidratos.⁴⁰

2.2.5. Extracto hidroalcohólico

Se trata de un preparado que se obtiene mediante la maceración o la percolación de materia vegetal en una mezcla de etanol y agua. Esta combinación de disolventes facilita la extracción de muchos tipos de compuestos solubles tanto en agua como en grasa (como los flavonoides y los alcaloides, entre otros). La presencia y la concentración de estos metabolitos dependen de su polaridad, así como de la cantidad de agua y alcohol utilizada en la solución.⁴¹

2.2.6. Evaluación genotóxica in vitro

El estudio de la genética toxicológica analiza los efectos de la exposición a la

radiación y a sustancias químicas que provocan mutaciones genéticas (como cambios en uno o varios pares de bases, alteraciones estructurales o numéricas en los cromosomas, como la aneuploidía y la poliploidía) o modificaciones en el ADN (como la formación de aductos, el entrecruzamiento y la interacción de bases, o la alquilación). Además, analiza los mecanismos de reparación que permiten comprender mejor las consecuencias de diversos agentes mutagénicos y los fenómenos relacionados con la recombinación mitótica.⁴²

Debido a la falta de un procedimiento metodológico específico para la evaluación genotóxica, las plantas medicinales deben estar sujetas a la misma normativa que rige los productos farmacéuticos. En primer lugar, la evaluación genotóxica de los extractos de plantas medicinales debe llevarse a cabo mediante ensayos *in vitro* validados a nivel mundial que detecten el daño causado por mutaciones cromosómicas y genéticas.⁴³

A nivel mundial, el objetivo principal de las principales vías o directrices para la investigación sobre genotoxicidad es demostrar qué tipo de organización del ADN afecta la sustancia que se está evaluando y en qué medida. Las mutaciones genéticas, los cambios cromosómicos y el daño primario al ADN se encuentran entre los diversos niveles de daño genético que pueden clasificarse en este contexto. Los dos primeros niveles están representados por una amplia gama de ensayos de uso frecuente, especialmente ensayos *in vitro*, que destacan por su excelente sensibilidad y precisión.⁴³

Si los resultados *in vitro* son negativos, debe llevarse a cabo una segunda fase de ensayos *in vivo* que aborden los mismos niveles de daño genético que se examinaron *in vitro*. Es necesario incorporar ensayos que midan el daño primario en el ADN una vez que se hayan evaluado los niveles cromosómicos y genéticos tanto *in vitro* como *in vivo*. En función de los resultados, se llevarán a cabo ensayos para medir otros cambios y la carcinogenicidad. Es necesario utilizar protocolos estandarizados (validados internacionalmente) en todos los análisis y niveles de daño, que tengan en cuenta la dosis recomendada, el tipo de exposición y la vía de administración del medicamento.⁴³

Las aberraciones cromosómicas, el intercambio de cromátidas hermanas, los micronúcleos, la síntesis de ADN no programada y la electroforesis celular (ensayo del cometa) se encuentran entre las pruebas *in vitro* que se utilizan con frecuencia en la investigación científica para identificar los efectos sobre el material genético en sus primeras fases.¹⁸

A. El ensayo cometa

Es una técnica utilizada para evaluar rupturas en las hebras de ADN a nivel celular. Su fundamento radica en que el ADN dañado, al estar fragmentado, se desplaza con mayor rapidez que el ADN íntegro durante la electroforesis en un gel de agarosa. Las suspensiones de células individuales mezcladas con agarosa se aplican en capas sobre portaobjetos y luego se someten a un proceso de lisis con detergentes y una solución concentrada de NaCl, lo que permite desintegrar las membranas celulares y retirar las histonas. Después, las preparaciones se exponen a electroforesis. Cuando existen roturas en el ADN, los fragmentos se desplazan hacia el ánodo, generando una forma similar a la cola de un cometa una vez teñidos con un colorante fluorescente y observados mediante microscopía de fluorescencia.¹⁸

El ensayo cometa puede realizarse en condiciones neutras o alcalinas, lo que permite detectar diferentes tipos de daño en el ADN. Mientras la modalidad alcalina identifica una mayor variedad de lesiones, ambas técnicas pueden revelar alteraciones similares en ciertas condiciones experimentales. Antes se consideraba que la electroforesis neutra identificaba principalmente roturas de doble cadena, mientras que la alcalina permitía observar una gama más amplia de lesiones, como roturas de cadena sencilla y sitios AP. No obstante, estudios recientes indican que ambos enfoques detectan lesiones que se superponen en gran medida. Las roturas de ADN y los sitios AP pueden generarse de forma natural por procesos fisiológicos, como la hidrólisis o la acción de radicales libres, y también por la exposición a agentes físicos o químicos que provocan diversos tipos de daño, incluyendo bases modificadas, enlaces cruzados y rupturas directas de la cadena.^{18,44}

B. El Método Tomasevich

El método "Tomasevich" es un tipo de "ensayo cometa", que se usa para comprobar la genotoxicidad. Miranda¹⁹, en este estudio se ha llevado a cabo con el objetivo de determinar los efectos genotóxicos que las plantas medicinales y/o los productos fitoterapéuticos tienen sobre el ADN genético *in vitro*. Se sugiere que el primer paso consiste en determinar qué partes de las plantas como hojas, flores, tallos, frutos y/o semilla se utilizan para elaborar remedios caseros. Además, el extracto puede ser acuoso, hidroalcohólico o contener otro disolvente orgánico.

Prepara soluciones de extracto con concentraciones de 10 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL y 100 mg/mL. A continuación, prepare una solución madre de 200 µL con una concentración de 1.500 ng/µL tras aislar el ADN genómico del organismo objeto de estudio (humano, animal o microbiano) mediante extracción orgánica o un kit

comercial, asegurándose de que el ADN esté intacto y no fragmentado.¹⁹

El tubo n.º 8 se utiliza como “muestra en blanco” y contiene 14 µL de extracto al 100 % más 6 µL de agua bidestilada; El tubo n.º 9 se utiliza como “control” y contiene 14 µL de ADN más 6 µL de agua bidestilada; y el tubo n.º 10 se utiliza como “prueba de nucleasa” y contiene 14 µL de ADN más 6 µL de extracto al 100 % y 6 µL de la enzima proteinasa K.¹⁹ Durante una hora, o hasta cuatro horas si es necesario, se incuba cada juego de tubos en un baño de agua a 37 °C.¹⁹ Las muestras se someten a electroforesis a 40 voltios durante tres horas en un gel de agarosa que contiene un 1 % de bromuro de etidio junto con un marcador de peso molecular (1 kb); a continuación, se observan bajo luz ultravioleta y se fotografían.¹⁹ El “blanco” se utiliza para confirmar que no hay ADN contaminante en el extracto; estas imágenes muestran la actividad genotóxica mediante la fragmentación del ADN en las siete concentraciones analizadas; dado que la proteinasa K destruiría las nucleasas durante el periodo de incubación, se utiliza el “blanco” para verificar que el efecto se debe a los metabolitos secundarios y no a la actividad de las nucleasas.¹⁹ El “control” se utiliza para comparar la cantidad de ADN sin tratar con la de los siete tubos que recibieron el tratamiento.¹⁹

C. Ensayo de micronúcleos

Es una técnica que se basa en la formación de cuerpos redondos que contienen cromatina y son visibles en el citoplasma de la célula. Estos micronúcleos con causado por el daño al ADN, pueden ser por procesos naturales como el metabolismo y envejecimiento, o por ser inducido por factores como los fragmentos de cromosomas céntricos, mala segregación de cromosomas, rotura de cromosomas céntricos e inestabilidad de minutos dobles.⁴⁵

Existen diferentes tipos de ensayos de micronúcleos, como son el ensayo de micronúcleos con bloque de citocinesis, eritrocitos de mamíferos micronúcleos, micronúcleos bucal o micronúcleo en otros tipos de células.⁴⁵

El ensayo de micronúcleos con bloqueo de citocinesis es uno de los métodos más utilizados, ya que el micronúcleo se hace visible únicamente después de la división celular. Para ello se emplea citocalasina B, un compuesto que inhibe la polimerización de los filamentos de actina y evita la citocinesis; sin embargo, no interfiere con la cariocinesis, lo que permite la formación de células binucleadas en las que puede observarse el micronúcleo. No obstante, su uso no se recomienda cuando se trabaja con linfocitos humanos, debido a que la duración del ciclo celular puede variar entre individuos, afectando la interpretación del ensayo.^{45,46}

2.2.7. Electroforesis en Gel

Es un ensayo utilizado para visualizar y separar ácidos nucleicos de diferente tamaño. La separación del ADN se logra mediante la aplicación de un campo eléctrico. Un ADN, al tener carga negativa, se desplaza del cátodo (–) al ánodo (+) cuando se aplica voltaje. La separación de las moléculas en el campo eléctrico depende de su peso, tamaño y forma, así como de la resistencia que oponen al desplazarse a través del gel. La movilidad de una partícula en este método aumenta con el incremento de su carga y disminuye con el aumento de la fuerza de fricción. Los iones reciben su nombre según el polo hacia el que se desplazan durante la electroforesis. Los iones positivos (cationes) fluyen hacia el cátodo, donde se combinan con electrones para reducirse. Los iones negativos (aniones) fluyen hacia el ánodo, donde donan electrones, los cuales fluyen desde la solución hacia el circuito eléctrico.^{47,48}

La separación se produce en diferentes tipos de geles. Estos geles contienen poros que permiten el paso de las moléculas de ADN según el tamaño del fragmento. Los fragmentos más grandes encuentran mayor obstrucción por parte de la matriz del gel y, por lo tanto, tienden a desplazarse menos distancia a lo largo del gel. Los fragmentos más pequeños pueden maniobrar a través de los poros del gel con mayor facilidad y, por consiguiente, tienden a desplazarse más distancia. Una vez completada la electroforesis, el gel se tiñe con un colorante intercalante como el bromuro de etidio. El bromuro de etidio se une a las bases del ADN y emite la fluorescencia bajo luz violeta, lo que permite su visualización, el tamaño relativo de los fragmentos obtenidos en el gel se determina comparando su posición con el marcador molecular que se utilice.⁴⁷

2.3. Marco conceptual

2.3.1. Ácido desoxirribonucleico

Sus siglas en español es ADN, el cual significa ácido desoxirribonucleico.³⁶

2.3.2. Ácido ribonucleico

Sus siglas en español es ARN, el cual significa ácido ribonucleico.³⁶

2.3.3. Colección Americana de Cultivos Tipo

Sus siglas en inglés es ATCC, es una entidad privada no lucrativa dedicada a la adquisición, preservación, autenticación y distribución de diversos materiales biológicos.⁴⁹

2.3.4. Efecto genotóxico

Es la capacidad de una sustancia para dañar el material genético de una célula.³²

2.3.5. Extracto hidroalcohólico

Es una solución obtenida a partir de uno o varias partes de la planta en una mezcla de alcohol y agua.⁵⁰

2.3.6. In vitro

Es una técnica experimental que ocurre no dentro del organismo vivo, generalmente en un laboratorio.³⁴

2.3.7. Operón

Es una unidad de ADN que contiene genes bajo el control de un solo promotor, lo que permite que se transcriban juntos en un ARNm.³⁰

2.3.8. Proteínas Fijadoras de Penicilina

Sus siglas en inglés es PBP, son enzimas bacterianas importantes para la síntesis de la pared celular de bacterias.³⁰

2.3.9. Topoisomerasa

Son proteínas monoméricas, producto de un solo gen. Estas enzimas participan en el corte del ADN estándar de doble cadena en una sola hebra.³⁰

2.3.10. Wallwa

Es una denominación común o vulgar del *Otholobium pubescens*.⁸

2.4. Marco Ético y Legal

Al ser un ensayo *in vitro* que se expone a los extractos de hojas y tallos, están exonerados a consentimiento informado.²⁶

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Alcance de Investigación

Alcance explicativo

3.2. Diseño de Investigación

Experimental

3.3. Unidad de Análisis

Los extractos hidroalcohólicos de las hojas y los tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”.

A. Unidad experimental

ADN genómico de *Staphylococcus aureus* a una concentración de 1500 ng/μL.

3.4. Población de Estudio

Otholobium pubescens “wallwa”, que crece en el anexo de Ccochachin del distrito de Huamanguilla, Provincia de Huanta y región de Ayacucho.

3.5. Muestra

Muestreo por conveniencia de *Otholobium pubescens* “wallwa”, para la obtención directa de hojas y tallos de 100 g de cada uno, en la ciudad de Ayacucho.

3.6. Criterios de Selección

3.6.1. Criterios de Inclusión

Las plantas consideradas en este trabajo como completas de *Otholobium pubescens* “wallwa”, al presentar hojas y tallos.

3.6.2. Criterios de Exclusión

Las plantas consideradas en este trabajo como incompletas de *Otholobium pubescens* “wallwa”, al no presentar hojas ni tallos o no estén en condición de ser recolectadas.

3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de datos

La técnica es el ensayo de genotoxicidad *in vitro*, específicamente el método “Tomasevich” es la prueba cometa modificado propuesto por Miranda. Los instrumentos para la recolección de datos son la electroforesis y la radiación UV.

3.7.1. Lugar de ejecución para la recolección de datos

La identificación de los metabolitos secundarios de los extractos hidroalcohólicos de las hojas y los tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”, se realizó en el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Ciencias de la Salud, los ensayos de genotoxicidad se realizaron en el Centro de Investigación en Biología molecular y Bioinformática de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.7.2. Procedimiento para la recolección de datos

A. Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”.

Las muestras de las hojas y de los tallos se recolectaron a primeras horas del día, seleccionando hojas sanas y maduras colocando en las bolsas de polietileno limpias para ser trasladadas al laboratorio de biología molecular.

Se procedió a extender sobre papel Kraft en sombra hasta que se seque la muestra luego por separado, las hojas y tallos fueron pulverizados, siguiente a esto la maceración en una solución de agua: alcohol (1:3) poner en período de una semana conservada en la oscuridad.

Posteriormente se filtró, se evaporó en solvente para obtener extracto y cuantificar su peso.

B. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”.

Los extractos hidroalcohólicos de las hojas y los tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” se sometieron a un análisis fitoquímico cualitativo con el fin de identificar la presencia de diversos metabolitos secundarios. El análisis se basó en las alteraciones estructurales que se producen en los metabolitos presentes, las cuales pueden identificarse mediante fenómenos como la aparición o desaparición del color, la formación o disolución de precipitados, o la liberación de gas. Para llevar a cabo las reacciones de identificación se siguió el protocolo propuesto por Lock⁵¹ y Miranda¹⁹.

C. Cultivo de *Staphylococcus aureus* y extracción de ADN cromosómico

Se siguió el siguiente procedimiento para reactivar y cultivar la cepa de *Staphylococcus aureus* en caldo de tripticasa y soja y, posteriormente, en agar de tripticasa y soja, con el fin de obtener una masa celular bacteriana y extraer el ADN genómico:

1. Se transfirieron 100 mg de masa celular del cultivo joven de *Staphylococcus aureus* a un tubo eppendorf de 2 mL usando un asa de kolle. Después se añadió 400 µL de buffer TE 1X al mismo tubo y luego se inactivaron las bacterias a una temperatura de 85° C durante 25 minutos.
2. Se incorporaron 60 µL de lisozima (10 mg/mL) y se incubó a 37° C durante dos horas en baño maría.
3. Después, se incorporó SDS/proteinasa K (75 µL de SDS al 10% más 5 µL de PK a 10 mg/mL) y se incubó durante 15 minutos a una temperatura de 65° C.
4. Se incubó a 65° C durante quince minutos después de añadir 100 µL de NaCl 5 M y cinco µL de CTAB (N-cetil-N,N,N-trimetilbromuro de amonio).
5. Se incorporó 750 µL de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), se homogeneizó mediante un agitado suave con la mano durante cinco minutos y luego se centrifugó a 14000 rpm por 15 minutos.
6. Después de que se formen dos capas en el tubo eppendorf, el sobrenadante se transfirió con cuidado a un tubo eppendorf distinto.
7. Después se añadió isopropanol helado al 100% en una cantidad de 600 µL, y luego se incubó la mezcla a -20°C durante toda la noche.
8. Se centrifugó a 14000 revoluciones por minuto durante un cuarto de hora y el sobrenadante se eliminó.
9. Se añadió 1 mL de etanol al 70% y se centrifugó durante diez minutos a una velocidad de 14000 rpm.
10. El sedimento fue rehidratado con 50 µL de agua bidestilada estéril y se desechó el sobrenadante.
11. Se añadió 1 µL de ARNasa, con una concentración de 20, mg/µL, y se mantuvo a 37°C, durante una hora.
12. Después, se almacenó a -20 °C hasta que se analizó más adelante.

D. Ensayos de genotoxicidad in vitro

Se aplicó el método “Tomasevich” (ensayos cometa modificado) propuesto por Miranda¹⁹.

En este ensayo no se emplea el control positivo con un compuesto que tenga el orden de fragmentación del ADN debido a la imposibilidad de obtener enzimas DNAsas por su alto costo; no obstante, se utilizó el “control negativo” con el tubo de ADN al que no se le aplica ningún tratamiento en el extracto. De igual manera, el marcador de tamaño molecular que se va a sembrar en el control N°1 puede

considerarse como un "control positivo" ya que no presentará variaciones con distintos tamaños moleculares, resultado de cortes en las secuencias conocidas como "target" del ADN, a nivel del enlace fosfoéster que mantiene unidos los nucleótidos continuos, y sigue las fases siguientes:

a) Fase de cuantificación y preparación de stock de ADN genómico obtenido para el ensayo

Se utilizó un espectrofotómetro Eppendorf BioPhotometer Plus UV para medir el ADN genómico aislado de *Staphylococcus aureus*. A continuación, se preparó una solución madre con una concentración de 1500 ng/ μ L y un volumen final de 150 μ L.⁵¹

b) Fase de ensayos de genotoxicidad in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa", sobre el ADN genómico del organismo en estudio.

Se elaboró las soluciones del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* "wallwa" a las concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL, haciendo uso de agua bidestilada estéril.

Del mismo modo, se utilizó un tubo que contenía 14 μ L de ADN con 6 μ L de extracto hidroalcohólico (ya fuera de hojas o de tallos) y 6 μ L de proteinasa K como "residuo de nucleasa", extracto al 100 % (es decir, sin diluir) como "blanco" y 14 μ L de ADN más 6 μ L de agua estéril como "control".

Para el ensayo de genotoxicidad *in vitro* se prepararon además los siguientes datos:

Tabla 1

Preparación de las mezclas para ensayo de genotoxicidad in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de Otholobium pubescens “wallwa”, frente al ADN de Staphylococcus aureus.

Condiciones		Mezclas para ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i>						
N° de tubo		1	2	3	4	5 Blanco	6 Control	7 PK
Stock de ADN (1500 ng/μL)		14	14	14	14	---	14	14
Volumen en μL								
Extracto	mg/mL	10	25	50	100	100	---	100
	μL	0.6	2.5	3	6	20	---	6
Proteinasa K		---	---	---	---	---	---	6
Agua bidestilada estéril		5.4	4.5	3	---	---	6	---
Volumen total (μL)		20	20	20	20	20	20	26

Se realizó cuatro repeticiones de los ensayos de genotoxicidad *in vitro*, de la planta medicinal en estudio.

c) Fase de electroforesis para la detección de genotoxicidad

Se preparó el gel de agarosa a una concentración del 1% y se ubicó en una cámara de electroforesis Biometra. Se empleó las siguientes cantidades para el volumen de carga en gel de agarosa:

Para la electroforesis, se mezclaron un microlitro del marcador de migración de bandas (carga), cuatro microlitros de la solución del ensayo de genotoxicidad *in vitro* y dos microlitros de agua doblemente destilada estéril. El pocillo correspondiente del gel de agarosa se llenó con un volumen total de 7 μL.

Durante cinco horas, la cámara de electroforesis estuvo conectada a la fuente de alimentación y ajustada a 30 voltios (V).⁵⁴

d) Fase de radiación UV para la visualización de genotoxicidad

Una vez finalizada la electroforesis en gel de agarosa, este se sumergió en una solución de bromuro de etidio al 1 % durante unos 10 minutos. Tras dos lavados con agua corriente, el gel se expuso a la luz ultravioleta en el sistema Biometra UV Solo TS para observar las bandas y/o fragmentos de ADN provocados por la genotoxicidad.⁴²

Además, se tomaron fotografías en todos los escenarios utilizando un transiluminador UV Ultra Lum y una cámara digital Canon de 12,1 megapíxeles con zoom de 20x y calidad Full HD para visualizar las bandas de ADN a diferentes concentraciones.⁴²

No se usó ningún software; en su lugar, fue cuantificado visualmente en términos de la fluorescencia del bromuro de etidio que emiten las bandas del ADN tratado y la fluorescencia de la banda del ADN "control", que no ha sido sometido a tratamiento alguno.

e) Fase de interpretación y clasificación del registro visual de genotoxicidad

Se estableció una escala de valores numéricos relacionados con las etapas de fragmentación del ADN derivadas de la genotoxicidad, basada en la clasificación del «ensayo del cometa» establecida por Speit (1995) y Collins (2004), tal y como se describe en la tesis de Marisol Larrea Poma; estas etapas se observaron en el registro fotográfico.⁵²

Tabla 2

Clasificación de los niveles de fragmentación del ADN por registro visual.

Clase	Genotoxicidad
0	Fragmentación de ADN < 5%
1	Fragmentación de ADN entre 5 a 20%
2	Fragmentación de ADN entre 20 a 40%
3	Fragmentación de ADN entre 40 a 95%
4	Fragmentación de ADN >95%

Fuente: Larrea Poma M., 2007

3.8. Análisis de datos

Para ilustrar mejor los resultados, los datos se agregaron y se presentaron en tablas, acompañados de imágenes y figuras. Se utilizó el programa de análisis estadístico SPSS para evaluar el daño genotóxico; el porcentaje de fragmentación en más de dos muestras independientes se determinó mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Según Hernández, se consideró estadísticamente significativo un valor p inferior a 0,05.⁵²

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

Tabla 3

Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa". Ayacucho, 2026.

Metabolitos secundarios	Ensayo	Extracto hidroalcohólico		Observaciones
		Hojas	Tallos	
Alcaloides	Dragendorff	+	+	Opalescencia
	Hager	+	+	Coloración amarilla
	Wagner	+	+	Coloración marrón rojizo
	Mayer	+	+	Opalescencia
Fenoles	Cloruro férrico	+++	+++	Coloración verde intenso
Taninos	Gelatina	+	+	Opalescencia
Flavonoides	Shinoda	++	+	Coloración carmelita
Aminoácidos	Ninhidrina	+	+	Coloración púrpura
Azúcares reductores	Benedict	+	+	Coloración verde oscuro
	Felhing	+	+	Coloración rojo leve
Coumarinas	Hidroxamato férrico	-	-	Ausencia
Glicosidos cardiotónicos	Kedde	+	+	Coloración naranja
Terpenos	Libermann-Burchard	++	++	Coloración verde oscuro
Quinonas	Borntrager	++	++	Coloración roja
Saponina	Espuma	-	-	No hay cambio

Nota. (-): ausencia; (+): leve; (++): moderado; (+++): abundante

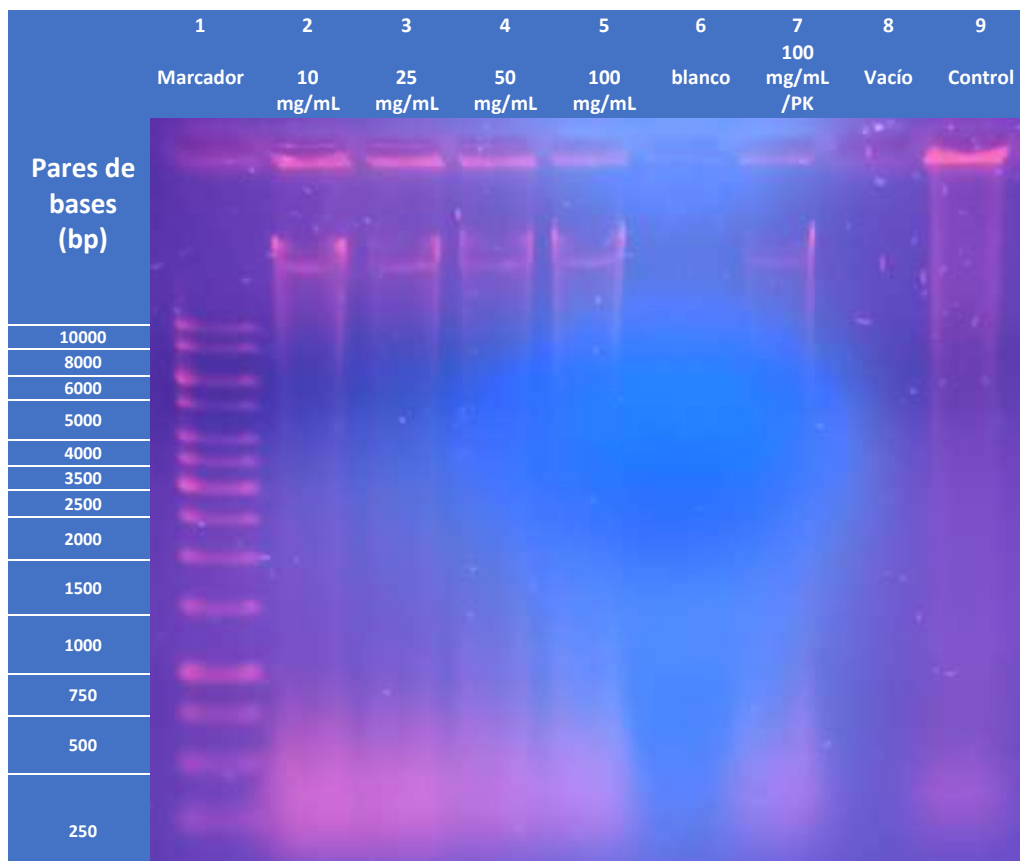


Figura 1. Ensayos de genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente al ADN de *Staphylococcus aureus*.

Leyenda:

Carril N° 1: Marcador de tamaño molecular 1kb (Thermo scientific)

Carril N° 2: extracto hidroalcohólico de hojas (10 mg/mL)

Carril N° 3: extracto hidroalcohólico de hojas (25 mg/mL)

Carril N° 4: extracto hidroalcohólico de hojas (50 mg/mL)

Carril N° 5: extracto hidroalcohólico de hojas (100 mg/mL)

Carril N° 6: extracto hidroalcohólico puro de hojas (blanco)

Carril N° 7: extracto (100 mg/mL) + proteinasa K

Carril N° 8: Vacío el carril

Carril N° 9: ADN puro (control)

Volumen de carga: Muestra (4 µL) + loading (1 µL) + agua estéril (2 µL) = 7 µL.

Condiciones del sistema de electroforesis: 40 V, 180 min

Coloración del ADN: bromuro de etidio (1%), 15 min

Tabla 4

Grado de fragmentación de ADN de *Staphylococcus aureus* frente al extracto hidroalcohólico de hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes “culén” “wallwa” en el ensayo de genotoxicidad *in vitro*, a concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL e incubado a 37 °C durante una hora.

Condiciones de la incubación		<i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes			
		Extracto hidroalcohólico de las hojas			
Temperatura	Tiempo	Concentración en mg/mL			
°C	Hora	10	25	50	100
37	1	1	2	3	3
		1	2	3	3
		1	2	3	3
		1	2	3	3

Nota. 0: menos del 5%, 1: entre 5% al 20%, 2: entre 20% al 40%, 3: entre 40% al 95%, 4: mayor al 95%. Durante una hora a 37°C.

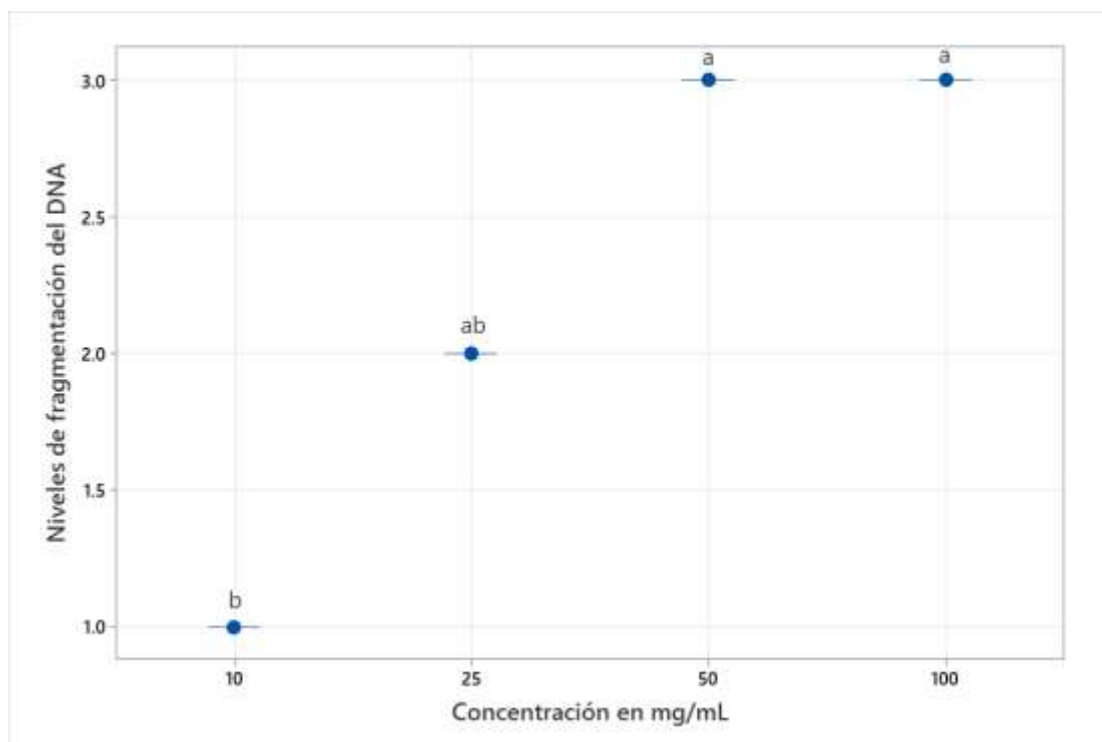


Figura 2. Ensayo de Kruskal-Wallis para la genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de hojas de *Otholobium pubescens* “wallwa”, a concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL, frente al ADN *Staphylococcus aureus*, incubado a 37°C durante una hora. CIBMB UNSCH. Ayacucho 2026. Prueba de Kruskal-Wallis ($H = 15$, $GL = 3$, $p = 0.002$).

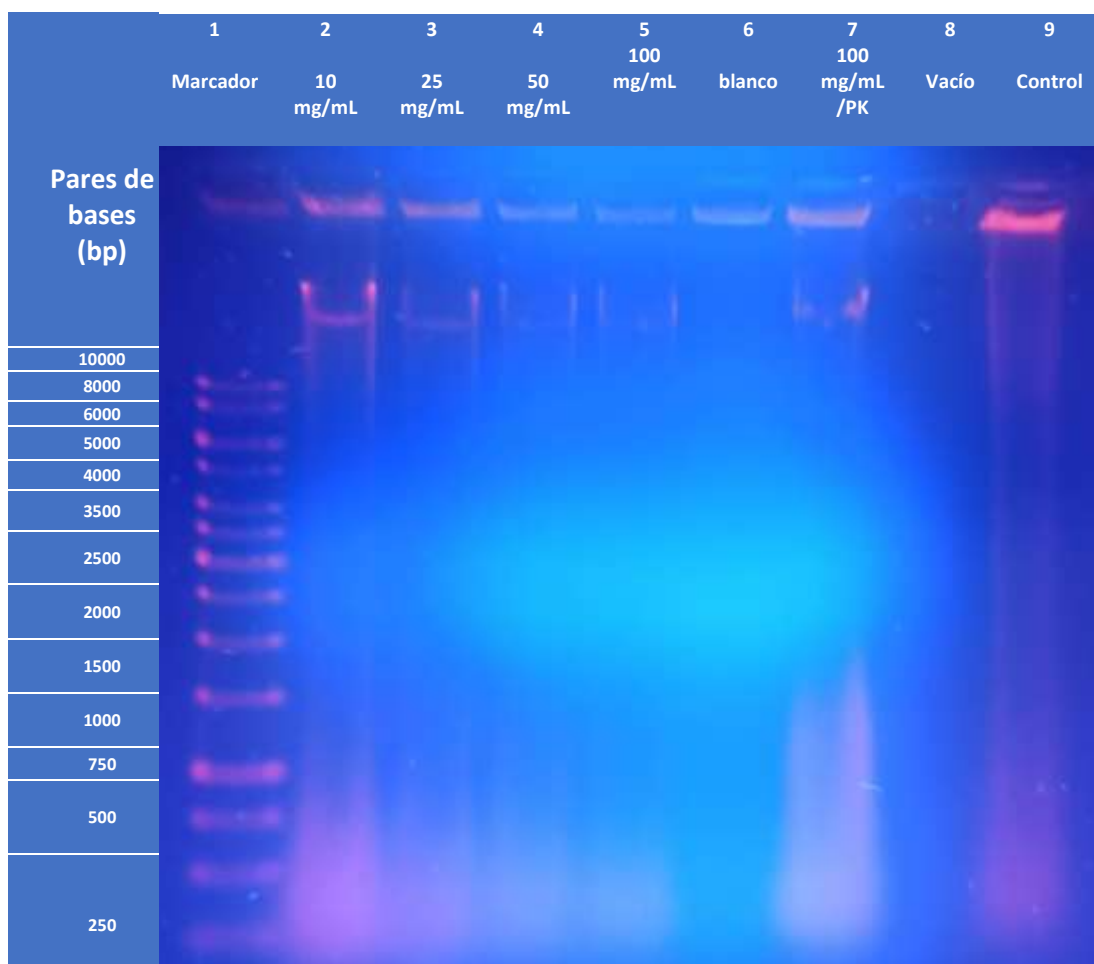


Figura 3. Ensayos de genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente al ADN de *Staphylococcus aureus*.

Leyenda:

Carril N° 1: Marcador de tamaño molecular 1kb (Thermo scientific)

Carril N° 2: extracto hidroalcohólico de tallos (10 mg/mL)

Carril N° 3: extracto hidroalcohólico de tallos (25 mg/mL)

Carril N° 4: extracto hidroalcohólico de tallos (50 mg/mL)

Carril N° 5: extracto hidroalcohólico de tallos (100 mg/mL)

Carril N° 6: extracto hidroalcohólico puro de tallos (100 mg/mL)

Carril N° 7: extracto hidroalcohólico de tallos (100 mg/mL) + proteinasa K

Carril N° 8: Vacío el carril

Carril N° 9: ADN puro (control)

Volumen de carga: Muestra (4 µL) + loading (1 µL) + agua estéril (2 µL) = 7 µL.

Condiciones del sistema de electroforesis: 40 V, 180 min

Coloración del ADN: bromuro de etidio (1%), 15 min

Tabla 5

Grado de fragmentación de ADN de *Staphylococcus aureus* frente al extracto hidroalcohólico de tallos de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes “culén” “wallwa” en el ensayo de genotoxicidad *in vitro*, a concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL e incubado a 37 °C durante una hora.

Condiciones de la incubación		<i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes			
		Extracto hidroalcohólico de los tallos			
Temperatura	Tiempo	Concentración en mg/mL			
°C	Hora	10	25	50	100
37	1	2	3	4	4
		2	3	4	4
		2	3	4	4
		2	3	4	4

Nota. 0: menos del 5%, 1: entre 5% al 20%, 2: entre 20% al 40%, 3: entre 40% al 95%, 4: mayor al 95%. Durante una hora a 37°C.

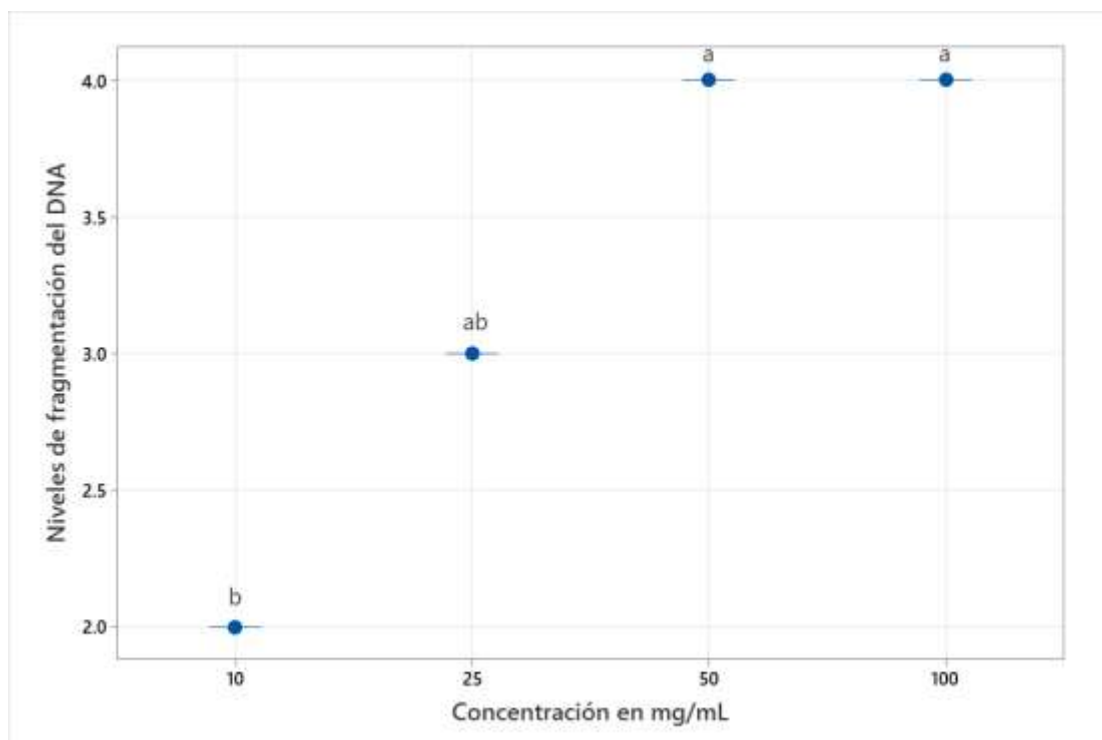


Figura 4. Ensayo de Kruskal-Wallis para genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”, a concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL, frente al ADN de *Staphylococcus aureus*, incubado a 37 °C durante una hora. CIBMB UNSCH. Ayacucho 2026. Prueba de Kruskal-Wallis ($H = 15$, $GL = 3$, $p = 0.002$).

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

Los metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas medicinales son el fundamento de la medicina tradicional andina y amazónica, un patrimonio que actualmente sustenta desarrollos en la medicina moderna. Estos compuestos han sido utilizados durante siglos por comunidades indígenas para tratar enfermedades, y su relevancia perdura porque sirven de precursores para la síntesis de fármacos efectivos. Sin embargo, aunque estos metabolitos poseen propiedades terapéuticas, su consumo desmedido representa un riesgo sanitario. La complejidad fitoquímica de estas plantas implica que un mismo extracto pueda contener múltiples sustancias con efectos divergentes: algunas beneficiosas y otras potencialmente tóxicas. Por tanto, la evaluación genotóxica y toxicológica es indispensable para distinguir estos metabolitos, garantizando así el uso seguro de estos recursos naturales. *Otholobium pubescens* “wallwa”, utilizada en la región de Ayacucho para tratar infecciones, procesos inflamatorios y trastornos gastrointestinales,¹ presenta un potencial genotóxico aún no determinado. Por tanto, el presente trabajo busca identificar los metabolitos secundarios responsables de los efectos genotóxicos.

Se realizaron las marchas fitoquímicas de los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”, tal como se muestra en la **tabla 3**, se evidenció que tanto las hojas como los tallos comparten una abundancia notable de fenoles, una presencia moderada de terpenos y quinonas, además de una leve cantidad de alcaloides, taninos, aminoácidos, azúcares reductores y glicósidos cardiotónicos, mientras que las saponinas y coumarinas estuvieron ausentes en ambos casos, finalmente, la diferencia entre ambos extractos radica en el contenido de flavonoides, observándose moderada cantidad de flavonoides en las hojas, mientras que los tallos evidencian leve presencia de los mismos. Sin embargo, reportes de la misma especie muestran discrepancia: Quilla⁶ evidenció en las hojas abundancia de alcaloides, flavonoides, terpenos, cumarinas, aminoácidos y catequinas, con moderada presencia de taninos, mientras que Solgorré⁸, trabajo con las hojas y no obtuvo resultados positivos en alcaloides, pero si reportó leve presencia de taninos, terpenos, saponinas,

flavonoides y azúcares reductores, por su parte Alvarado⁵ encontró lactonas sesquiterpénicas, taninos y alcaloides en las hojas y los tallos, en caso de Caro⁷ demostró mediante cromatografía de capa fina que la hoja presenta taninos, flavonoides y antraquinonas. En especies relacionadas se observan perfiles distintos, *Otholobium mexicanum* presentado por Diaz⁹, reportó en las hojas resultados negativos en alcaloides y triterpenoides, abundante en saponinas y azúcares reductores, y leve presencia de naftoquinonas, antraquinonas antronas, flavonoides y taninos. En el caso de la especie *Psoralea glandulosa* (conocido como el *Otholobium glandulosum*) estudiado por Cordova & Quispe¹⁰ reportaron en las hojas cantidades leves de terpenos y saponinas, mínima presencia de flavonoides, alcaloides, carbohidratos y cumarinas, y ausencia de quinonas, fenoles, leucoantocianidinas y antraquinonas.

La evaluación del efecto genotóxico en productos naturales puede abordarse mediante distintos métodos experimentales. Entre las pruebas *in vitro* identificadas por Bardoloi & Soren¹⁵, se incluyen el ensayo cometa, prueba de micronúcleos (MN), prueba Ames (BRM), aberración cromosómica (ChA), prueba de *Allium cepa* (ACTA), ensayo Vitotox (VA), ensayo western (WA), linfoma de ratón tk e inducción lisogénica (LI). El presente estudio utilizó el método “Tomasevich”, desarrollado por Miranda¹⁹ como una variante del ensayo cometa representa una herramienta de utilidad en contexto de investigación con recursos limitados. Este método consiste en el empleo de electroforesis en gel de agarosa, visualizando en el gel de agarosa de manera directa la fragmentación del ADN, proporcionando datos cualitativos y cuantitativos de forma rápida y confiable. Para evaluar el daño genotóxico *in vitro*, el ADN de *Staphylococcus aureus* fue expuesto a concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL del extracto hidroalcohólico e incubado a 37 °C. Posteriormente, la fragmentación del ADN bacteriano fue determinado mediante electroforesis en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio al 1% durante 15 minutos, y visualizado bajo radiación ultravioleta utilizando el sistema de registro de imágenes Biometra UVsolo TS. La interpretación de los resultados se basó en el análisis de la integridad del ADN que es directamente proporcional a la intensidad de fluorescencia observada en cada carril. La distribución de los carriles fue la siguiente: el carril 1 correspondió al marcador de tamaño molecular GeneRuler 1 kb DNA Ladder (Thermo Scientific); los carriles 2, 3, 4 y 5 contuvieron el extracto a concentraciones de 10, 25, 50 y 100 mg/mL, respectivamente, cada uno en combinación con ADN bacteriano; el carril 6 se destinó al blanco, conformado por el extracto puro a 100 mg/mL sin ADN; el carril 7 incluyó el extracto

a 100 mg/mL con ADN y proteinasa K; el carril 8 se dejó vacío; y el carril 9 correspondió al control, constituido por ADN puro sin extracto. El volumen de siembra fue de 7 µL por carril, preparado con 4 µL de muestra, 1 µL de *loading* y 2 µL de agua estéril. Las condiciones de electroforesis se establecieron a 40 V durante 180 minutos. La clasificación de los porcentajes de fragmentación del ADN genómico se realizó mediante análisis visual por comparación de la intensidad de fluorescencia del control y los tratamientos

Los resultados de la evaluación de la actividad genotóxica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” evidencian que ambos extractos provocan fragmentación del ADN bacteriano, siendo este proceso dependiente de la concentración del extracto enfrentado con el ADN de *Staphylococcus aureus*. Como se aprecia en **las figuras 1 y 3**, la fragmentación del ADN genómico es visualizada en el gel de agarosa por la disminución de la intensidad de la fluorescencia de las bandas de ADN que fueron tratadas con los extractos en comparación con el control.

Los grados de fragmentación obtenidos de **las tablas 4 y 5** evidencian una relación dosis-respuesta en ambos extractos: a medida que aumenta la concentración, se incrementa progresivamente el grado de fragmentación del ADN tratado. A una concentración de 10 mg/mL, el extracto de hojas indujo una fragmentación de entre 5% y 20% del ADN tratado (**Tabla 4**), mientras que el de tallos produjo una fragmentación mayor, comprendida entre 20% y 40% (**Tabla 5**). A 25 mg/mL, la fragmentación ocasionada por el extracto de hojas osciló entre 20% y 40% (**Tabla 4**), en tanto que el extracto de tallos alcanzó rangos de entre 40% y 95% (**Tabla 5**); a concentraciones de 50 mg/mL y 100 mg/mL, el extracto de hojas indujo una fragmentación de entre 40% y 95% (**Tabla 4**), mientras que el extracto de tallos superó el 95% del ADN expuesto (**Tabla 5**), evidenciando un daño casi total del material genético; así mismo, el ADN tratado con 100 mg/mL de extracto más proteinasa K arrojó resultados comparables a los obtenidos con las concentraciones de 50 mg/mL y 100 mg/mL en ambos extractos (**las figuras 1 y 3**). Este hallazgo confirma que la fragmentación del ADN es atribuible a los metabolitos secundarios presentes en el extracto y no a posibles enzimas nucleasas contaminantes, ya que la proteinasa K las habría descompuesto.

No existen estudios previos de la actividad genotóxica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”. En este contexto, los antecedentes de investigación que emplearon el método “Tomasevich” en otras

especies vegetales respaldan y contextualizan los resultados reportados: en el estudio de Rondinel²⁷, quien investigó el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels “nogal” frente a ADN genómico humano y de *Staphylococcus aureus*, donde reportó que a una concentración 100 mg/mL la fragmentación es mayor a 95% del ADN genómico humano y del *Staphylococcus aureus*; por su parte Cervantes²⁶, trabajó con el extracto hidroalcohólico de *Ricinus communis* “higuerilla” frente al ADN de *Escherichia coli*, reportó que a 100 mg/mL la fragmentación del ADN es mayor al 95% del ADN tratado; mientras que Rivera²⁵, evaluó el extracto hidroalcohólico mixto de *Cinchona spp.*, *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* frente al ADN de *Escherichia coli*, donde evidenció que a 100 mg/mL se obtuvo una mayor grado de fragmentación. En todos estos trabajos, al igual que en el presente estudio, el grado de fragmentación del ADN resultó directamente proporcional a la concentración del extracto evaluado; sin embargo, en el caso de *Otholobium pubescens*, dicho efecto fue particularmente pronunciado a las concentraciones de 50 mg/mL y 100 mg/mL, tanto en el extracto de hojas como en el de tallos. Las especies mencionadas, empleadas popularmente en la región de Ayacucho para atender diversas afecciones de salud, por lo que el uso prolongado e indiscriminado de estas plantas representa un potencial riesgo tóxico y genotóxico que no debe subestimarse.

Los grados de fragmentación consignados en la **tabla 4** y la **tabla 5**, fueron analizados con la prueba de kruskal – wallis, confrontando el grado de fragmentación ADN de *Staphylococcus aureus* (%) frente a las concentraciones de los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” (mg/mL), cuyos resultados se presentaron en la **figura 2** y la **figura 4** respectivamente. El porcentaje de fragmentación del ADN de *Staphylococcus aureus* constituye el indicador del grado de genotoxicidad del extracto. Para evaluar el efecto genotóxico de la concentración del extracto, se planteó como hipótesis nula (H_0) que las medianas del porcentaje de fragmentación correspondientes a las distintas concentraciones del extracto son iguales, y como hipótesis alterna (H_1) que al menos una de esas medianas es diferente significativamente de las demás. Los resultados obtenidos indican que, para $GL = 3$ y $H = 15$, el valor de $p = 0.002$. Dado que este valor es inferior al nivel de significancia establecido ($\alpha = 0,05$), se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 . Este hallazgo permite concluir que el grado de fragmentación del ADN de *Staphylococcus aureus* es estadísticamente dependiente de las concentraciones de los extractos hidroalcohólicos, tanto de hojas como de tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”.

En lo que respecta al efecto genotóxico de las hojas de especies del género *Otholobium*, el trabajo científico disponible no reporta evidencia directa; sin embargo, los datos de toxicidad existentes permiten contextualizar el riesgo biológico asociado a sus extractos, siendo los parámetros más reportados la Concentración Letal Media (CL50), la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). En cuanto a la CL50, Bussmann *et al*²⁴ obtuvieron un valor de 271 µg/mL para el extracto etanólico de *Otholobium glandulosum*, resultado que se ubica dentro del rango de toxicidad moderada, donde se clasifica como tóxicas a las sustancias cuya CL50 es inferior a 1000 µg/mL; sin embargo, este valor contrasta con el reportado por Espinoza & Heredia²⁰, quienes, trabajando con *Otholobium mexicanum* bajo el modelo de *Danio rerio*, obtuvieron una CL50 de 5,0282 µg/mL, cifra que refleja una toxicidad considerablemente mayor y que podría estar relacionada con diferencias en el perfil fitoquímico entre ambas especies o con la sensibilidad propia del modelo vertebrado empleado. En una línea distinta, Solgorré⁸, determinó que la dosis letal media de *Otholobium pubescens* en *Artemia salina* se presenta a concentraciones superiores a 750 mg/kg de peso corporal, lo que ubica a esta especie en un perfil de baja toxicidad aguda bajo ese modelo. Respecto a la actividad antimicrobiana, Ramírez & Prieto²² reportaron una CMI de 0,1 µg/mL para *Otholobium mexicanum*, valor que denota una marcada potencia inhibitoria; no obstante, Cuesta & Mogrovejo²¹, trabajando con el extracto metanólico de la misma especie, obtuvieron una CMI de 16 µg/mL, discrepancia que probablemente responda a factores metodológicos como el tipo de solvente utilizado, la cepa microbiana evaluado el protocolo de extracción aplicado. Para *Otholobium pubescens*, Ventura⁴ determinó valores de CMI y CMB en hojas de 1,56 mg/mL y 3,12 mg/mL, respectivamente, lo que refleja una actividad antimicrobiana de magnitud intermedia. Los resultados constituyen el primer reporte de genotoxicidad documentado para las hojas de *Otholobium pubescens*, evidenciado que a concentraciones de 50 mg/mL y 100 mg/mL; este resultado es relevante porque dichas concentraciones supera los valores de CMI y CMB descritos anteriormente lo que indica que el efecto genotóxico ocurre a niveles muy por encima de los requeridos para la acción antimicrobiana, situación que debe considerarse al momento de evaluar la seguridad de su uso con fines terapéuticos y que abre la necesidad de investigaciones futuras orientadas a dilucidar los mecanismos.

En lo que concierne a los tallos de *Otholobium pubescens*, los trabajos científicos son escasos, dado que la mayoría de investigaciones sobre este género han

centrado su atención en las hojas como órgano de estudio preferente. Ventura⁴, es la única referencia disponible que reporta datos farmacológicos para tallos de *Otholobium pubescens*, determinando valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de 6.25 mg/mL y 12.5 mg/mL, respectivamente. Estos parámetros, empleados convencionalmente para caracterizar la eficacia de agentes antimicrobianos, revelan una diferencia farmacológica sustancial respecto a las hojas de la misma especie. El extracto de tallos requiere concentraciones superiores para ejercer actividad antimicrobiana, lo que sugiere una menor cantidad de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana en este órgano. Alvarado⁵, reportó la capacidad de captación de radicales libres del 92.57% a una concentración de 100 µg/mL, lo que posiciona a *Otholobium pubescens* como una fuente promisoría de agentes antioxidantes de origen natural. Por otra parte, la evaluación de la actividad citotóxica demostró que el extracto presenta efectos citostáticos contra huevos fértiles de erizo de mar a una concentración de 333 µg/mL, sugiriendo la presencia de compuestos bioactivos con capacidad para interferir con procesos celulares críticos. Los resultados de genotoxicidad revelaron que los efectos genotóxicos en los tallos se manifestaron a concentraciones de 50 mg/mL y 100 mg/mL, valores que superan ampliamente tanto la CMI como la CMB reportadas. Este hallazgo es crucial, ya que establece un margen considerable entre la concentración activa desde el punto de vista antimicrobiano y aquella a la que se evidencia daño genético.

El extracto hidroalcohólico de tallos de *Otholobium pubescens* mostró mayor potencial genotóxico comparado con el extracto de hojas. A concentraciones de 50 y 100 mg/mL, el extracto de tallos evidenció fragmentación de ADN superior al 95% (**Tabla 5**), mientras que el extracto de hojas alcanzó fragmentación entre 40% y 95% (**Tabla 4**). Ventura⁴, aunque los datos *in vitro* revelaron una diferencia notable en los valores de CMI y CMB, sugiriendo que las hojas podrían ejercer mayor efecto antibacteriano que los tallos contra *Staphylococcus aureus*, a nivel molecular se observó que los tallos demostraron superior genotoxicidad sobre el ADN bacteriano. Esta discrepancia entre la actividad antibacteriana y la genotoxicidad indica que ambos extractos actúan mediante mecanismos distintos, siendo los tallos más efectivos en la inducción de daño génico mientras que las hojas presentan mayor capacidad inhibitoria del crecimiento bacteriano.

Hasta la fecha, ningún estudio ha identificado un metabolito específico ni un mecanismo molecular concreto al cual pueda atribuirse el efecto genotóxico observado

en hojas y tallos de *Otholobium pubescens*; no obstante, la marcha fitoquímica realizada en el presente estudio, al evidenciar la presencia de terpenos y alcaloides en ambos órganos vegetales, ofrece una aproximación razonable para orientar esta discusión. En el caso de los terpenos, Günes *et al*¹¹ demostraron que el carvacrol, un terpeno modificado, ejerce efectos genotóxicos mediados por la generación de especies reactivas de oxígeno, mecanismo que podría estar operando de manera similar con los terpenos identificados en esta especie; además, Gallucci *et al*¹² reportaron que tanto el timol como el carvacrol poseen actividad bactericida, lo que guarda coherencia con los valores de CMI y CMB obtenidos en el presente trabajo y refuerza la hipótesis de que este grupo de metabolitos participa activamente en las propiedades biológicas descritas. Por otro lado, en lo que respecta a los alcaloides, Zhou *et al*¹⁴ documentaron que la isoconkuressina y la N-formilconessimina exhiben actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a meticilina, mientras que Chen *et al*¹³ advirtieron que los alcaloides de tipo pirrolizidina representan una clase de especial preocupación toxicológica, dado que su genotoxicidad está bien documentada tanto *in vivo* como *in vitro*, expresándose a través de la formación de aductos de ADN, entrecruzamientos de cadenas, rupturas de hebra, intercambio de cromátidas hermanas, aparición de micronúcleos y aberraciones cromosómicas de diversa índole; con base en lo anterior, se propone que el efecto genotóxico evidenciado en *Otholobium pubescens* podría ser el resultado de una acción sinérgica entre estos grupos de metabolitos, aunque su confirmación requiere estudios específicos. También en el estudio de Bardoloi & Soren¹⁵, las familias botánicas Fabaceae, Asteraceae, Rosaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae y Apocynaceae presentan la más alta frecuencia de metabolitos secundarios con potencial genotóxico. Entre los principales compuestos responsables de estos efectos se encuentran los alcaloides pirrolizidínicos, alil tiocianato, ácido aristolóchico, propenilbenceno, hidrazina, antraquinonas, isotiocianatos, flavonoides, cumarinas y psoralenos.¹⁵ Al pertenecer a la familia Fabaceae y presentar alcaloides en la marcha fitoquímica, se podría sugerir una investigación posterior que permita llegar a determinar si son los alcaloides de tipo pirrolizidina.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

- Los extractos hidroalcohólicos de las hojas y tallos del *Otholobium pubescens* “wallwa” presentan efecto genotóxico *in vitro* sobre el ADN de *Staphylococcus aureus*.
- Los metabolitos secundarios detectados en los extractos hidroalcohólicos de las hojas y tallos del *Otholobium pubescens* “wallwa”, fueron: alcaloides, fenoles, taninos, flavonoides, aminoácidos, azúcares reductores, glicósidos cardiotónicos, terpeno y quinonas.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas del *Otholobium pubescens* “wallwa” evidenció un efecto genotóxico, presentando superiores porcentajes de fragmentación del ADN que oscilan entre 40% y 95% en las concentraciones de 50 mg/mL y 100 mg/mL.
- El extracto hidroalcohólico de los tallos del *Otholobium pubescens* “wallwa” presentó efecto genotóxico, alcanzando mayores porcentajes de fragmentación del ADN superiores al 95% en las concentraciones de 50 mg/mL y 100 mg/mL.

CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES

- Para validar los resultados de los experimentos *in vitro*, realizar ensayos de genotoxicidad con animales *in vivo*.
- Depositar el ADN control en los carriles 10 u 11, alejado del extracto puro, para evitar el contacto con metabolitos genotóxicos durante la migración electroforética.
- Para identificar y caracterizar las sustancias que provocan la fragmentación del ADN, se llevarán a cabo investigaciones específicas utilizando HPLC junto con un espectrómetro de masas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bussmann RW, Sharon D. Traditional medicinal plant use in Northern Peru: tracking two thousand years of healing culture. *J Ethnobiol Ethnomedicine*. 2006;2(1):47.
2. Madrid A, Silva V. Past, present and future of *Psoralea glandulosa* Linn, Chilean medicinal plant, an inexhaustible resource: A literature review. *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromáticas*. 2024;23(3):336-48.
3. Paniagua N, Bussmann R. *Ethnobotany of the Andes*. 1a ed. Cham: Springer International Publishing; 2020. 31 p.
4. Ventura M. Actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* «wallwa» frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ayacucho, 2025 [Tesis de pregrado] Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2025.77 p.
5. Britt Alvarado. Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la cordillera Negra. [Tesis de maestría] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
6. Quilla Cárdenas NA. Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes «wallwa». Ayacucho - 2013 [Tesis de pregrado] Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2013
7. Caro Palomino NM. Estudio del Efecto Hipoglicemiante del Extracto Metanólico de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes Culen en Ratas Wistar. Arequipa - 2010 [Tesis de pregrado] Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2012.
8. Solgorré E. Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Otholobium pubescens* en la hiporglicemia experimental en *Rattus norvergicus* var. *Albinus* [Tesis de maestría] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005.

9. Diaz Betancourt GM. Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Otholobium mexicanum* (Trinitaria) y evaluación de su actividad biológica y antioxidante. [Tesis de doctorado] Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana; 2025.
10. Cordova Julcarima LM, Quispe Quispe NS. Caracterización fitoquímica y capacidad antioxidante de extracto hidroalcohólico y acuoso de hojas de colen (*Psoralea glandulosa*) [Tesis de pregrado] Huancayo: Universidad Peruana de los Andes; 2023.
11. Günes-Bayir A, Kiziltan HS, Kocyigit A, Güler EM, Karatas E, Toprak A. Effects of natural phenolic compound carvacrol on the human gastric adenocarcinoma (AGS) cells in vitro. *Anticancer Drugs*. 2017;28(5):522.
12. Gallucci MN, Oliva M, Casero C, Dambolena J, Luna A, Zygodlo J, et al. Antimicrobial combined action of terpenes against the food-borne microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. *Flavour Fragr J*. 2009;24(6):348-54.
13. Chen T, Mei N, Fu PP. Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. *J Appl Toxicol JAT*. 2010;30(3):183-96
14. Zhou LN, Ge XL, Dong TT, Gao HY, Sun BH. Alcaloides esteroides antibacterianos de *Holarrhena antidysenterica*. *Chin J Nat Med*. 2017;15(7):540-5.
15. Bardoloi A, Soren AD. Genotoxicity induced by medicinal plants. *Bull Natl Res Cent*. 2022;46(1):119.
16. Cuello AS, Zampini IC, Isla MI. Libro resúmenes de las XXVII Jornadas de la Asociación de biología Tucumán. 1a ed. vol. 1. Argentina: Universidad Nacional de Tucumán; 2010. 41 p.
17. Al-Naqeb G, Kalmpourtzidou A, Giampieri F, De Giuseppe R, Cena H. Genotoxic and antigenotoxic medicinal plant extracts and their main phytochemicals: “A review”. *Front Pharmacol*. 2024;15(1):4-10.

18. Cordelli E, Bignami M, Pacchierotti F. Comet assay: a versatile but complex tool in genotoxicity testing. *Toxicol Res.* 5 de enero de 2021;10(1):68-78.
19. Miranda T, Valer G. *Protocolos de Biología Molecular-Guía de práctica.* 2013.
20. Espinoza Cabrera PE, Heredia Andino OS. Evaluación toxicológica de los extractos metanólicos de *peperomia* sp y *otholobium mexicanum* mediante la técnica de toxicidad aguda en embriones de peces en el modelo de danio rerio. [Tesis de pregrado] Ecuador: Universidad de Cuenca; 2023
21. Cuesta Cárdenas JN, Mogrovejo Nieves VM. Evaluación del método y solvente de extracción más eficientes para la obtención de metabolitos secundarios responsables de una actividad antioxidante y antibacteriana de 9 plantas medicinales en la ciudad de Cuenca-Ecuador [Tesis de pregrado] Ecuador: Universidad de Cuenca; 2020.
22. Ramirez V, Prieto A. Evaluación del halo de inhibición de la planta *Otholobium mexicanum* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. [Bogotá]: Universidad de Ciencias Aplicada y Ambientales U.D.C.A; 2019.
23. Sponchiado G, Adam ML, Silva CD, Silva Soley B, de Mello-Sampayo C, Cabrini DA, et al. Quantitative genotoxicity assays for analysis of medicinal plants: A systematic review. *J Ethnopharmacol.* 2016;178:289-96.
24. Bussmann RW, Malca G, Glenn A, Sharon D, Nilsen B, Parris B, et al. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. *J Ethnopharmacol.* 2011;137(1):121-40.
25. Rivera Gutierrez CA. Efecto genotóxico del extracto hidroalcohólico mixto de *Cinchona* spp., *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* frente al ADN de *Escherichia coli* [Tesis de pregrado] Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2024.
26. Cervantes Vargas R. Efecto genotóxico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Ricinus communis* “higuerilla” frente al ADN de *Escherichia coli*. Ayacucho, 2023 [Tesis de pregrado] Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2025.

27. Rondinel Valenzuela G. Efecto genotóxico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels “nogal” frente a ADN genómico humano y de *Staphylococcus aureus*. Ayacucho, 2018. [Tesis de pregrado] Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2019.
28. Baron S, Albrecht, T. Medical Microbiology. 4a ed. Galveston, Tex: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. 1p.
29. Suzuki H, Lefébure T, Bitar PP, Stanhope MJ. Comparative genomic analysis of the genus *Staphylococcus* including *Staphylococcus aureus* and its newly described sister species *Staphylococcus simiae*. BMC Genomics. 2012;13:38.
30. Mlynarczyk-Bonikowska B, Kowalewski C, Krolak-Ulinska A, Marusza W. Molecular Mechanisms of Drug Resistance in *Staphylococcus aureus*. Int J Mol Sci. 2022;23(15):8088.
31. Ray SC, Jana NR. Carbon nanomaterials for biological and medical applications. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2017. 43-86 p.
32. Kuete, V. Toxicological Survey of African Medicinal Plants. 1a ed. Amsterdam: Elsevier; 2014. 235-275 p.
33. Menz J, Götz ME, Gündel U, Gürtler R, Herrmann K, Hessel-Pras S, et al. Genotoxicity assessment: opportunities, challenges and perspectives for quantitative evaluations of dose–response data. Arch Toxicol. 2023;97(9):2303-28.
34. Jayan H, Pu H, Sun DW. Recent development in rapid detection techniques for microorganism activities in food matrices using bio-recognition: A review. Trends Food Sci Technol. 2020;95:233-46.
35. Cole A, Eastoe J. Biochemistry and Oral Biology. 2 a ed. London: Wright; 1988. 109-18 p.
36. Shen CH. Diagnostic Molecular Biology. Saint Louis: Elsevier Science & Technology; 2019. 1-25 p.

37. Blanco A, Blanco G. Medical Biochemistry. London San Diego: Elsevier, Academic Press; 2017. 121-40 p.
38. Minchin S, Lodge J. Understanding biochemistry: structure and function of nucleic acids. *Essays Biochem.* 2019;63(4):433-56.
39. Wang D, Farhana A. Biochemistry, RNA Structure. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
40. Lucena-Aguilar G, Sánchez-López AM, Barberán-Aceituno C, Carrillo-Ávila JA, López Guerrero JA, Aguilar-Quesada R. DNA Source Selection for Downstream Applications Based on DNA Quality Indicators Analysis. *Biopreservation Biobanking.* 2016;14(4):264-70.
41. Tituaña G, Córdova I, Tobar M, Lascano A. Estudio del proceso de obtención de extractos de plantas medicinales. *Revista Caribeña Ciencias Sociales.* 2018; 20-5.
42. Lodish H. Biología celular y molecular. Ed. Médica Panamericana; 2005. 1096 p.
43. Hoffmann S, Hartung T, Stephens M. Evidence-Based Toxicology. *Adv Exp Med Biol.* 2016;856:231-41.
44. Collins AR, Oscoz AA, Brunborg G, Gaivão I, Giovannelli L, Kruszewski M, et al. The comet assay: topical issues. *Mutagenesis.* 2008;23(3):143-51.
45. Sommer S, Buraczewska I, Kruszewski M. Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4):1534.
46. Sommer. Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. OECD Guidel Test of Chemicals Sect 4; 2023. 30 p.
47. Badal S, Delgoda R. Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategies. Amsterdam Bstotn Heidelberg london: Elsevier Academic Press; 2017. 549-63 p.

48. Goodman S. Medical Cell Biology. 3a ed. Amsterdam Boston Heidelberg: Elsevier Academic Press; 2008. 1-26 p.
49. Berns K, Bond E, Manning F. Resource Sharing in Biomedical Research. Washington, D.C: National Academies Press; 1996. 96 p.
50. Gomez Patiño RR. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 [Tesis de pregrado] Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2023.
51. Lock Sing de Ugaz O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 1994.
52. Larrea Poma M. Evaluación del daño genotóxico por exposición a plaguicidas en agricultores del municipio. [Tesis de maestría] La Paz: Universidad Mayor de San Andres; 2007.

ANEXOS

Anexo 1

Constancia de identificación botánica de *Otholobium pubescens* "wallwa"

CONSTANCIA

LA BIOLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

Que, el Est. en Farmacia y Bioquímica Sr. Maycol Javier, YANASUPO CCORIMANYA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de APG IV 2016), siendo su taxonomía la siguiente:

ORDEN	:	FABALES
FAMILIA	:	FABACEAE
GENERO	:	Otholobium
ESPECIE	:	<i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes
N. V.,	:	"culén", "Wallwa"

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 11 de noviembre del 2025


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 2.

Recolección de la muestra vegetal Otholobium pubescens " Wallwa"



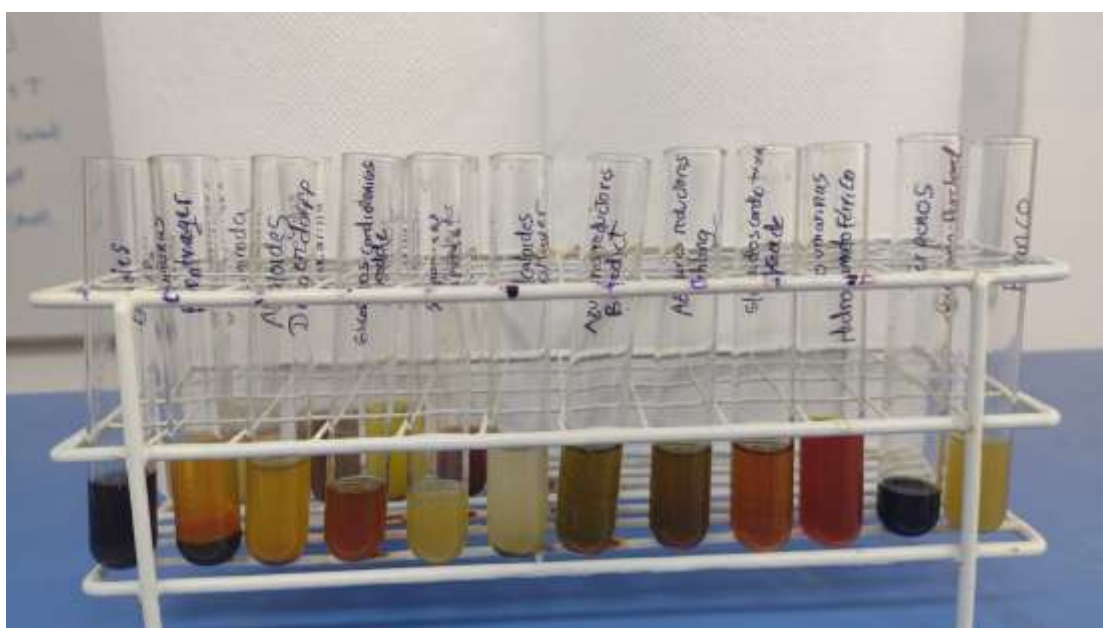
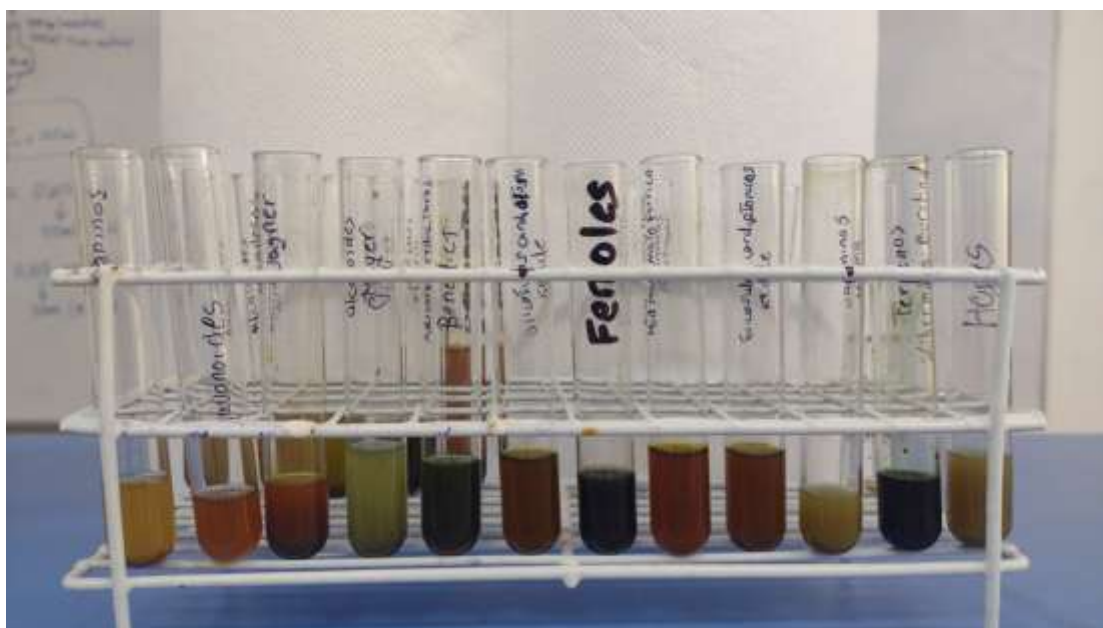
Anexo 3

Preparación del extracto hidroalcohólico del *Otholobium pubescens* “wallwa”



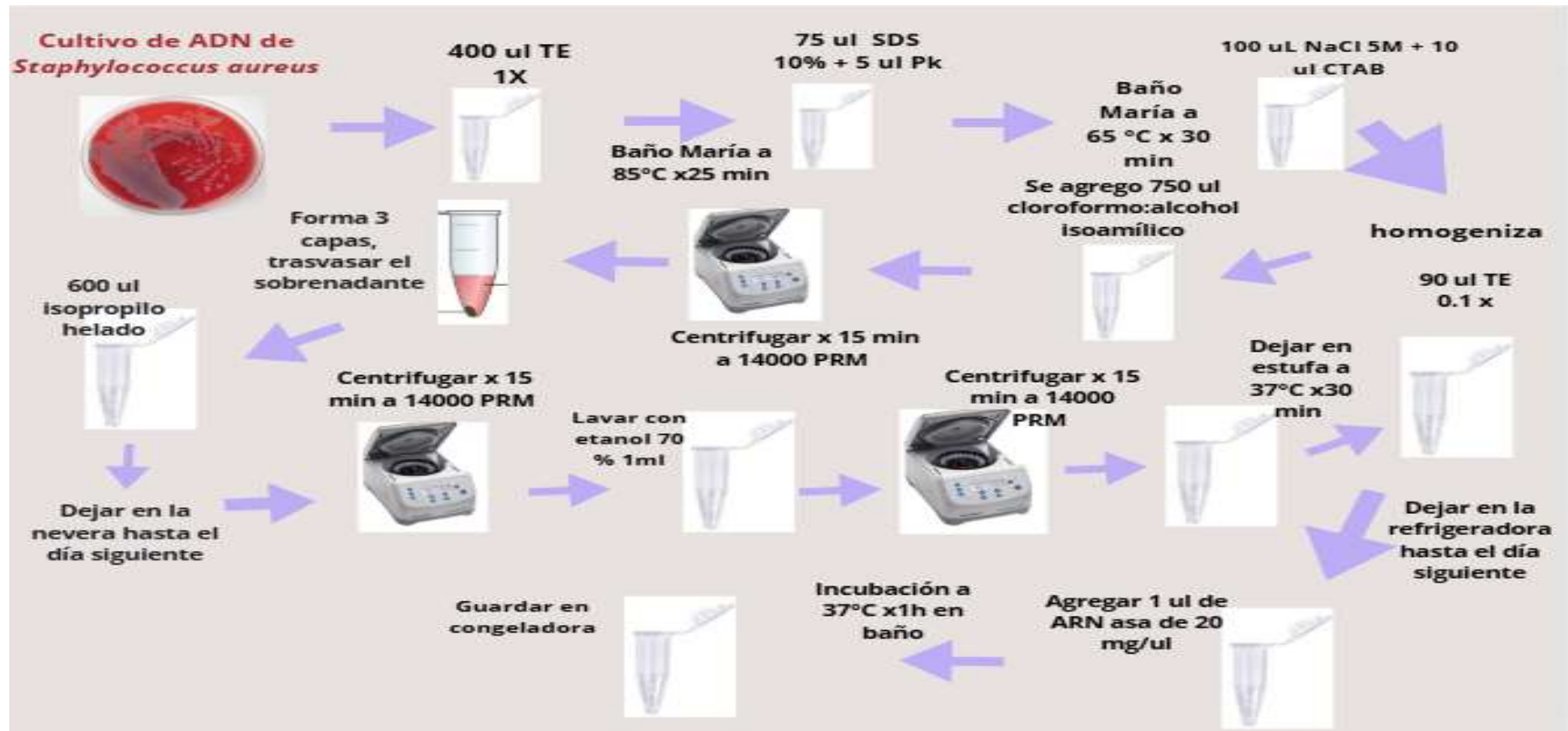
Anexo 4

Identificación de metabolitos secundarios de los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”.



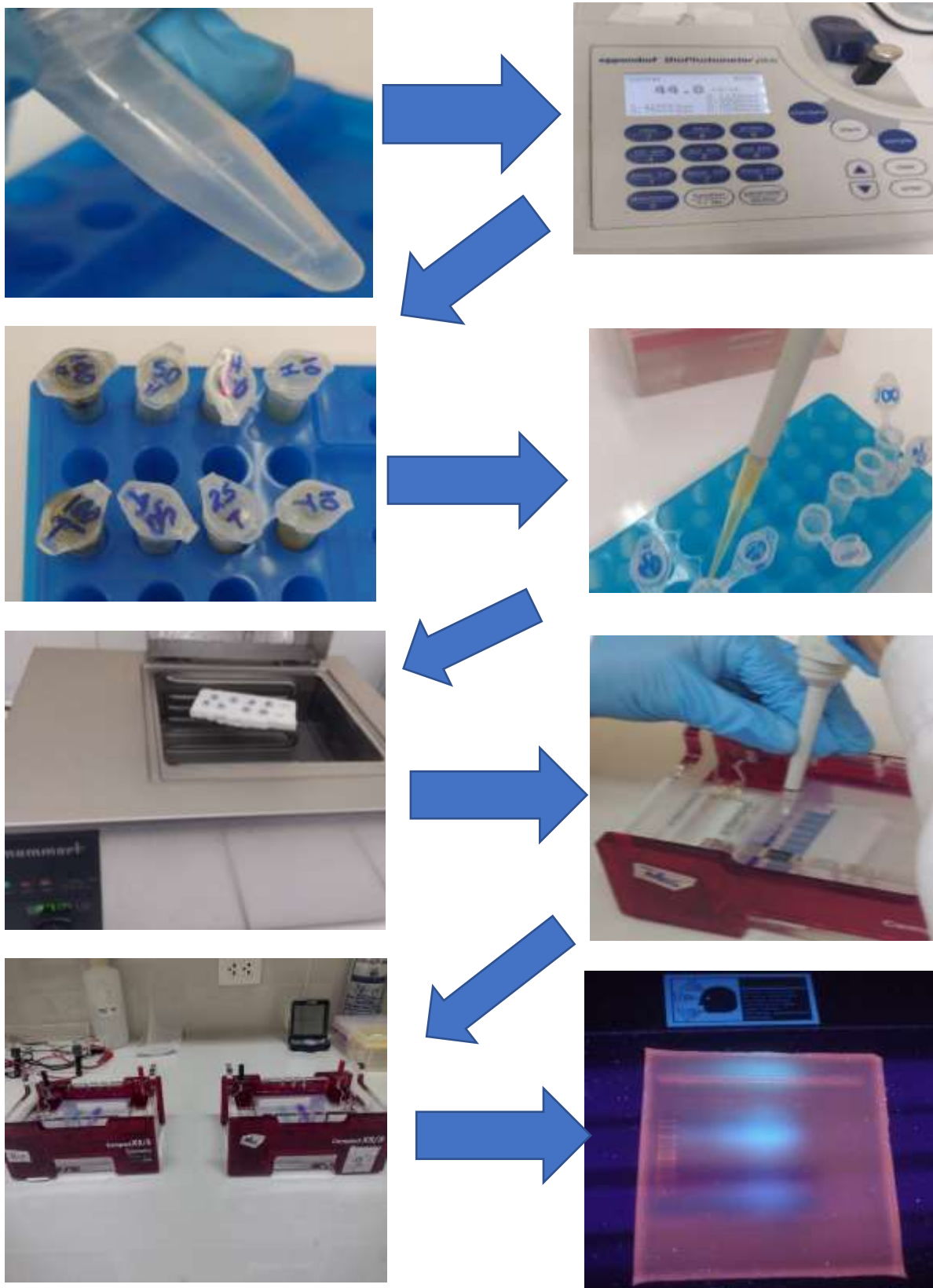
Anexo 5

Protocolo de extracción de ADN genómico de *Staphylococcus aureus*.



Anexo 6

Proceso para la determinación del efecto genotóxico in vitro del extracto hidroalcohólico del *Otholobium pubescens* "wallwa" frente al ADN de *Staphylococcus aureus*. Ayacucho, 2026.



Anexo 7

Prueba de Kruskal – Wallis para evaluar el grado de genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de hojas de Otholobium pubescens “wallwa”, según la concentración del extracto, frente al ADN de Staphylococcus aureus incubado a 37°C durante una hora. Ayacucho, 2026.

Prueba

Hipótesis nula Ho: Todas las medianas son iguales
Hipótesis alterna H₁: Al menos una mediana es diferente

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	3	12.71	0.005
Ajustado para empates	3	15.00	0.002

La aproximación de chi-cuadrada podría no ser exacta cuando algunos tamaños de muestra sean menores que 5.

Comparaciones de a pares entre las medias de los rangos de tratamientos.

Concentración en mg/mL	Medianas	Ranks
10	1	2.5
25	2	6.5
50	3	12.5
100	3	12.5

Anexo 8

Prueba de Kruskal – Wallis para evaluar el grado de genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de los tallos de Otholobium pubescens “wallwa”, según la concentración del extracto, frente al ADN de Staphylococcus aureus incubado a 37°C durante una hora. Ayacucho, 2026.

Prueba

Hipótesis nula Ho: Todas las medianas son iguales

Hipótesis alterna H₁: Al menos una mediana es diferente

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	3	12.71	0.005
Ajustado para empates	3	15.00	0.002

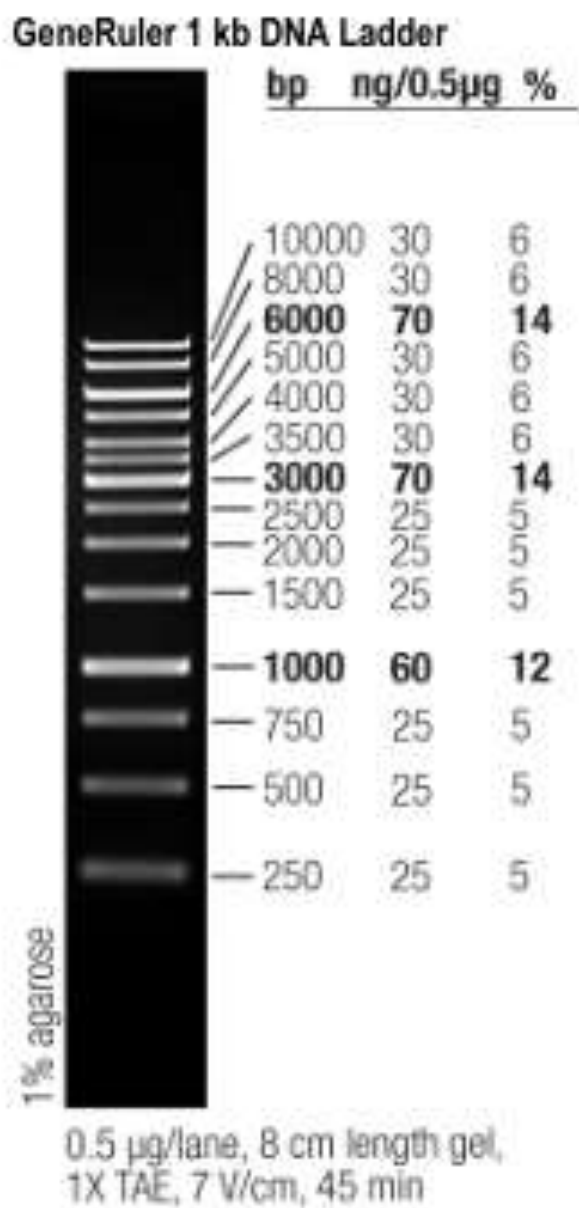
La aproximación de chi-cuadrada podría no ser exacta cuando algunos tamaños de muestra sean menores que 5.

Comparaciones de a pares entre las medias de los rangos de tratamientos.

Concentración	Medianas	Ranks
10	2	2.5
25	3	6.5
50	4	12.5
100	4	12.5

Anexo 9

Bandas del marcador de tamaño molecular (1kb) del laboratorio Thermo scientific



Firmado digitalmente
por Mtra. EDITH
EVELING
CONISLLA
CACERES

Anexo 10

Matriz de Definición y Operacionalización de Variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Unidad de medida	Valoración	Escala de medición
Independiente: Extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium</i> <i>pubescens</i> “wallwa”.	Es una solución obtenida a partir de una o varias partes de la planta en una mezcla de alcohol y agua. ⁵⁰	Se maceró el extracto de hojas y tallos triturados en etanol al 70 % y agua destilada durante siete días. Para eliminar el disolvente se sometió a estufa.	Concentración	Masa/volumen (mg/mL)	10, 25, 50 y 100 mg/mL	Ordinal
Dependiente: Efecto genotóxico frente al ADN de <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> .	Es la capacidad de una sustancia para dañar el material genético de una célula. ³²	Se evaluará de acuerdo a las fragmentaciones que presenta en el gel de electroforesis.	Grado de fragmentación del ADN genómico	En porcentaje	Escala numérica: 0,1, 2, 3 y 4	Ordinal


Firmado digitalmente por
MSc. Kirianova
Godoy Bautista
Fecha: 2026.06.29
20:32:00 -05'00'


Firmado digitalmente
por Luisa Noa
Yarasca
Fecha:
2026.07.01
08:43:04
-05'00'


Firmado digitalmente
por Mtra. EDITH
EVELING
CONISLLA
CACERES

Anexo 11

Matriz de Consistencia

Título: Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente al ADN de *Staphylococcus aureus*.

Ayacucho, 2025

Autor: Bach. Maycol Javier Yanasupo Ccorimanya

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología
Problema General: ¿Los extractos hidroalcohólicos de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” tendrá efecto genotóxico <i>in vitro</i> frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Objetivo General Determinar la genotoxicidad <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Los extractos hidroalcohólicos de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”, presenta efecto genotóxico <i>in vitro</i> frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Variable Independiente: Concentración de las hojas y tallos <i>Otholobium pubescens</i> . “wallwa” Indicador: Concentración en porcentaje (%) de las hojas y semillas. Variables Dependientes: Efecto genotóxico frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> Indicador: Grado de fragmentación del Ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico de <i>Staphylococcus aureus</i>	Alcance de investigación: Explicativo Diseño de investigación Experimental Unidad de análisis Los extractos hidroalcohólicos de las hojas y los tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” Unidad experimental: ADN genómico de <i>Staphylococcus aureus</i> Población de estudio <i>Otholobium pubescens</i> . “wallwa” que crece en Ayacucho. Muestra Muestreo por conveniencia de hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> . “wallwa” para el extracto hidroalcohólico, en la ciudad de Ayacucho Análisis estadístico Paquete estadístico SPSS y la prueba de Kruskal wallis

Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis específicas
• ¿Qué metabolitos secundarios están presentes en el extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”? • ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” presentan efectos genotóxicos <i>in vitro</i> frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i>? • ¿El extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” presentan efectos genotóxicos <i>in vitro</i> frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i>?	a) Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”. b) Evaluar la genotoxicidad <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i>. c) Evaluar la genotoxicidad <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i>.	a) El extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” contiene metabolitos secundarios b) El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” presenta efectos genotóxicos frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i>. c) El extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” presenta efectos genotóxicos frente al ADN de <i>Staphylococcus aureus</i>.

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N°507-2026-UNSCH-FCSA-D

BACHILLER: MAYCOL JAVIER YANASUPO CCORIMANYA

En la ciudad de Ayacucho, siendo las nueve y diez de la mañana del día diecisiete del mes de julio del año dos mil veintiseis, se reunieron en el auditorium de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: **Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente al ADN de *Staphylococcus aureus*. Ayacucho, 2025**, presentado por el bachiller MAYCOL JAVIER YANASUPO CCORIMANYA para optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

El jurado evaluador está conformado por:

Presidente	:Prof. Kirianova Godoy Bautista
Miembros	:Prof. Kirianova Godoy Bautista Prof. Edith Eveling Conislla Cáceres
4to jurado	:Prof. Edwin Carlos Enciso Roca
Asesora	:Prof. Luisa Noa Yarasca
Secretaria Docente	:Prof. Gabriela Bellido Mujica

Con el quorum de reglamento se dio inicio la sustentación de tesis, la presidente de la comisión pide a la secretaria docente dar lectura a los documentos presentados por el recurrente, resolución decanal y algunas indicaciones al sustentante.

Da inicio a la exposición el Bachiller: MAYCOL JAVIER YANASUPO CCORIMANYA, y una vez concluida, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente se da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

El presidente invita al sustentante abandonar el auditorium para que pueda proceder con la calificación.

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN FINAL

Bachiller: MAYCOL JAVIER YANASUPO CCORIMANYA

JURADOS	TEXTO	EXPOSICIÓN	PREGUNTAS	P.FINAL
Prof. Kirianova Godoy Bautista	15	15	14	15
Prof. Edith E. Conislla Cáceres	17	17	17	17
Prof. Edwin Carlos Enciso Roca	17	17	17	17
PROMEDIO FINAL				16

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: **Aprobar** al Bachiller MAYCOL JAVIER YANASUPO CCORIMANYA; quien obtuvo la nota final de dieciséis (16) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al

pie del presente, siendo las 10:50 de la mañana, se da por concluido el presente acto académico.



Prof. Kirianova Godoy Baustista

Presidente



Prof. Kirianova Godoy Baustista

Miembro



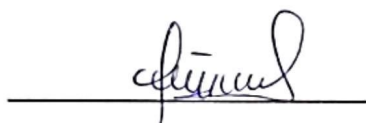
Prof. Edith E. Conislla Cáceres

Miembro



Prof. Edwin Carlos Enciso Roca

Miembro



Prof. Luisa Noa Yarasca

Miembro asesora



Prof. Gabriela Bellido Mujica

Secretaria Docente

**UNSCH**FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUDESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA

El Instructor en Segunda Instancia, en virtud de la RCU N° 039 – 2021 – UNCH – CU, y en calidad de Director de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, emite la presente

CONSTANCIA

DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

A Maycol Javier YANASUPO CCORIMANYA, Bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en mérito a que la tesis titulada: Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente al ADN de *Staphylococcus aureus*. Ayacucho, 2025; ha alcanzado un índice de similitud de 22 % (veintidós por ciento); cumpliendo satisfactoriamente lo establecido en el Art. 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga mediante el uso del SOFTWARE TURNITIN.

En tal sentido, se emite la presente constancia en señal de conformidad.

Ayacucho, 28 de junio de 2026.

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica


Dr. Enrique Javier Aguilar Felices
Director

Firmado
digitalmente por
Enrique Javier
Aguilar Felices
Fecha:
2026.06.28
13:35:33 -05'00'

CONTANCIA N° 012 - 2026

Efecto genotóxico in vitro del extracto
hidroalcohólico de *Otholobium pubescens*
“wallwa” frente al ADN de *Staphylococcus aureus*.
Ayacucho, 2025

por Maycol Javier YANASUPO CCORIMANYA

Efecto genotóxico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente al ADN de *Staphylococcus aureus*. Ayacucho, 2025

INFORME DE ORIGINALIDAD

22%

INDICE DE SIMILITUD

21%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

15%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.unsch.edu.pe

Fuente de Internet

2

Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

Trabajo del estudiante

3

renati.sunedu.gob.pe

Fuente de Internet

4

dspace.ups.edu.ec

Fuente de Internet

5

Submitted to Universidad Católica de Santa María

Trabajo del estudiante

6

dspace.ucuenca.edu.ec

Fuente de Internet

7

repositorio.upads.edu.pe

Fuente de Internet

8

hdl.handle.net

Fuente de Internet

9

repositorio.unjbg.edu.pe

Fuente de Internet

10

portalcris.lsmuni.lt

Fuente de Internet

11

Submitted to Universidad Anahuac México Sur

Trabajo del estudiante

12

ouci.dntb.gov.ua

Fuente de Internet

13

www.ijpsonline.com

Fuente de Internet

14

Yang Ye, Ying Ma, Mei Kong, Zhihua Wang, Kang Sun, Fang Li. "Effects of Dietary Phytochemicals on DNA Damage in Cancer Cells", Nutrition and Cancer, 2022

Publicación

15 teses.usp.br
Fuente de Internet

16 rpmj.pe
Fuente de Internet

17 bmcbgenomics.biomedcentral.com
Fuente de Internet

18 dokumen.pub
Fuente de Internet

19 livrosdeamor.com.br
Fuente de Internet

20 revistas.unsch.edu.pe
Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Excluir bibliografia

Activo