



Universidad Nacional

SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA

EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud iThenticate, al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

Presentado por:

UCEDA ESCATE, JOSE MIGUEL

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **1%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 20 de Junio de 2023


.....
Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

POJB/osad

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico
de hojas de *Mentha spicata* L. frente a *Staphylococcus aureus* y
Escherichia coli

Línea de investigación

Salud pública y conservación del medio ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

Bach. UCEDA ESCATE JOSE MIGUEL

Ica- Perú

2023

Dedicatoria:

A mis padres, Yesica y Giovanni, por acompañarme en cada paso que doy y siempre ser el motor que impulsa mis sueños, quienes estuvieron siempre a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio. Siempre han sido mis mejores guías de vida, les dedico a ustedes este logro a mis amado padres, como una meta más conquistada.

A mi hermano, por todo su apoyo incondicional y por ser un claro ejemplo de que todo se puede lograr.

También se la dedico a mi abuela, desde el cielo será esa luz que me guiará en mi vida profesional.

José Miguel

Agradecimientos

Agradecer a los doctores de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de la profesión, de manera especial, al Mg. Jaime David Torres Lévano asesor de este proyecto de investigación quien ha guiado con su paciencia, y su rectitud, su valioso aporte para esta investigación ha contribuido a culminar con éxito la meta propuesta.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Portada	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice	iv
- Índice de contenidos	iv
- Índice de tablas	v
- Índice de figuras	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
I. Introducción	9
II. Estrategia metodológica	20
III. Resultados	28
IV. Discusión	38
V. Conclusiones	39
VI. Recomendaciones	40
VII. Referencias bibliográficas	41
VIII. Anexos	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico de hojas de <i>Mentha spicata</i> L.	28
Tabla 2: Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>Mentha spicata</i> L. frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	29
Tabla 3: Prueba de homogeneidad de varianzas	31
Tabla 4: Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>Mentha spicata</i> L. frente a <i>E. coli</i>	32
Tabla 5: Prueba de homogeneidad de varianzas	34
Tabla 6: Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de <i>Mentha spicata</i> L. a diferentes concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	35
Tabla 7: Porcentaje de inhibición relativa (PIR) del extracto etanólico de hojas de <i>Mentha spicata</i> L. frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Preparación del material vegetal	22
Figura 2: Metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico de <i>Mentha spicata</i> L.	25
Figura 3: Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Mentha</i> <i>spicata</i> L. frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	30
Figura 4: Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Mentha</i> <i>spicata</i> L. frente a <i>Escherichia coli</i>	33
Figura 5: Promedio de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de <i>Mentha spicata</i> L. a diferentes concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	36

RESUMEN

En el presente estudio se determinó efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, para ello se consideró realizar reacciones de identificación de metabolitos secundarios teniendo como resultados la presencia de flavonoides, taninos, triterpenos, alcaloides, de los cuales en mayor abundancia se obtuvo triterpenos y alcaloides. Para determinar el efecto inhibitorio se utilizó el agar Mueller- Hinton y por medio del Método de difusión de disco llegando a las siguientes conclusiones: El extracto etanólico de *Mentha spicata* L. al 100% si posee mayor efecto inhibitorio frente a las cepas de *S. aureus* mostrando mayor sensibilidad frente al mencionado extracto. La concentración del 100% del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. frente a *Escherichia coli* presentó halos de inhibición de 15mm mostrando sensibilidad intermedia. La determinación fitoquímica del extracto etanólico de *Mentha spicata* L. nos permitió determinar la presencia de los siguientes metabolitos: Flavonoides, taninos, triterpenos, alcaloides, de los cuales en mayor abundancia se obtuvo triterpenos y alcaloides. El mayor porcentaje de inhibición relativa (PIR), del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. a una concentración de 100%, se obtuvo frente las cepas de *Staphylococcus aureus* con 71% y frente las cepas de *Escherichia coli* fue de 68%.

Palabras clave: *Efecto inhibitorio, Mentha spicata, extracto etanólico, bacterias.*

ABSTRACT

In the present study, the in vitro inhibitory effect of the ethanolic extract of *Mentha spicata* L. leaves was determined against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, for which it was considered to carry out secondary metabolite identification reactions, resulting in the presence of flavonoids, tannins, triterpenes, , alkaloids, from which triterpenes and alkaloids were obtained in greater abundance. To determine the inhibitory effect, Mueller-Hinton agar was used and by means of the Disk Diffusion Method, reaching the following conclusions: The 100% ethanolic extract of *Mentha spicata* L. does have a greater inhibitory effect against the strains of *S. aureus* showing greater sensitivity against the aforementioned extract. The 100% concentration of the ethanolic extract of *Mentha spicata* L. leaves against *Escherichia coli* presented inhibition halos of 15mm showing intermediate sensitivity. The phytochemical determination of the ethanolic extract of *Mentha spicata* L. allowed us to determine the presence of the following metabolites: Flavonoids, tannins, triterpenes, alkaloids, from which triterpenes and alkaloids were obtained in greater abundance. The highest percentage of relative inhibition (PIR), of the ethanolic extract of *Mentha spicata* L. leaves at a concentration of 100%, was obtained against *Staphylococcus aureus* strains with 71% and against *Escherichia coli* strains it was 68%.

Key words: Inhibitory effect, Mentha spicata, ethanolic extract, bacteria.

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se ha incrementado la resistencia bacteriana a los antimicrobianos en los últimos años, en muchos de los casos se debe al inadecuado uso de los antimicrobianos, inapropiada prescripción, el abuso excesivo de los mismos, la automedicación han conllevado una problemática en la salud pública para controlar esta resistencia de cepas que se hacen cada día más resistentes y no responden a los tratamientos convencionales además podemos ver que es notable el incremento de las enfermedades infecciosas producidas por bacterias patógenas, las mismas que se encuentran en el entorno e incluso en nuestro cuerpo, en centros de salud y hospitales. Ante ello la farmacología está en búsqueda una nueva alternativa para el tratamiento de enfermedades recurriendo a la obtención de agentes antimicrobianos de origen natural, que no ocasionen efectos adversos o toxicidad, se debe tener en cuenta que nuestro país es poseedor de una gran flora vegetal, la misma que estamos en la obligación de investigarla y descubrir los bioactivos con propiedades medicinales, alimenticias y cosméticas para la población. (1)

En los países en desarrollo, los sistemas de salud consideran a las plantas un recurso valioso, datos estimados por la Organización Mundial de la salud determinan que el 80% de la población mundial para su atención primaria de salud, emplean la medicina tradicional, usan los extractos de plantas o sus principios activos. (2)

En diferentes regiones del mundo se ha dado mucha importancia a la investigación sobre plantas medicinales y su uso medicinal tradicional, en las últimas décadas. Por ellos es importante recurrir a los estudios etnobotánicos para documentar los conocimientos tradicionales indígenas y de esta manera utilizar y conservar los recursos biológicos que la naturaleza nos provee. Siempre que se desee investigar las plantas medicinales, se debe elaborar una encuesta etnobotánica en el lugar de estudio, para saber con certeza la época de recolección, formas de uso, efectos indeseables y las propiedades medicinales, quienes mejor que los usuarios de las plantas que nos transmitan sus conocimientos ancestrales. Algo que debemos tener muy en cuenta es que los principios activos se encuentran distribuidos en todo el vegetal, pero se concentran un poco más en una parte, es por ello que el estudio implicaría un estudio global de la especie, para dejar datos concretos que serán de base para las investigaciones venideras, es también de mucha importancia tener en cuenta la identificación botánica, para tener la certeza de que especie se trata, es importante conocer el hábitat, la composición de la tierra, condiciones climáticas entre otros.

Para el descubrimiento de nuevos fármacos se requiere de un conocimiento más profundo de los vegetales y un estudio científico de las plantas medicinales, que conduce a que

muchos que se reconozcan como fitofármacos. Existen plantas medicinales conocidas por la población, con propiedades antimicrobianas, uno de los problemas más comunes es que aún faltan profundizar los estudios para corroborar los beneficios y no pasen desapercibidos. En nuestra actualidad existen una variedad de plantas medicinales con metabolitos secundarios que las proveen de actividades biológicas. Existen antecedentes de enfermedades causadas por bacterias u hongos, que han sido controladas empleando extractos de plantas que han demostrado efectos antibacterianos y antifúngicos, inclusive otras propiedades curativas. (3)

***Mentha spicata* L.:**

Sinonimia botánica: *Mentha viridis* L. *Mentha piperita* L. *Mentha sp*, *Mentha longifolia* L. (4)

Sinonimia común: Menta de jardín, hierbabuena, yerbabuena.

Clasificación Sistemática: Según clasificación de A. Cronquist (1988), la especie vegetal en estudio tiene la siguiente clasificación taxonómica:

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

GÉNERO: *Mentha*

ESPECIE: *Mentha spicata* L.

Descripción botánica: es una planta aromática, glabra perenne es rastrera, rizomatosa, que crece hasta 100 cm de altura, su rizoma es subterráneo (5).

Las hojas son de color verde miden de 5 a 9 cm y de ancho 1,5 a 3 cm, son de forma ovadas o lanceoladas, de ápice agudo presentan con un margen dentado. Sus flores de color rosa o blanco de 2,5 a 3 mm de largo y ancho. El tallo tiene forma cuadrada, sin pelos. (6).

Origen y distribución: Nativa de Europa, se cultiva en España, Inglaterra, Grecia, Estados Unidos, Japón, China en Sudamérica en Argentina, Perú y Colombia. No crece en estado silvestre, se ha adaptado a la tierra sombreada, húmeda y protegida del viento; en huertas, sobre todo los cultivos.

Historia: Dioscórides y Hipócrates utilizaron *M. spicata* para el tratamiento de enfermedades estomacales. Se le atribuye analgésicos y carminativos. Los soldados romanos fueron los encargados de la distribución por toda Europa y se cultivó en los ranchos de la iglesia en el siglo IX y se utilizaba para curar las úlceras de la boca, la rabia

y disminuir el dolor por picaduras de abejas, en los siglos Medianos la menta se usaba tradicionalmente para casos de distensión abdominal, dolor abdominal, indigestión, diarrea, debilidad intestinal, sinusitis y resfriados, en los niños para problemas psicológicos, dolor de cabeza y como antídoto (7). En la antigua Grecia. Se añadía a los baños y se usaba para tratar enfermedades de transmisión sexual, blanquear los dientes y curar llagas en la boca.

Parte utilizada: sumidades floridas y hojas.

Composición química: Las hojas contienen ácidos fenólicos, taninos, flavonoides, lignanos y minerales en un 10% y de aceite esencial 0,5% (8).

El aceite esencial de menta contiene carvona, carvacrol, trans-carveol, óxido de piperitona, limoneno, 1,8- cineol, canfeno, p-cimeno, dihidrocarvona, pulegona, β -cariofileno, germacreno D, mentona, α -pineno y linalool. (9)

Usos etnomedicinales: La menta verde se ha utilizado en la medicina tradicional iraní desde la antigüedad para el tratamiento de la diarrea, el antídoto, la indigestión, la debilidad intestinal, el dolor abdominal, el resfriado, la gripe, la sinusitis, la flatulencia, dolor de cabeza y para bajar la fiebre. (10).

Según reportes de la medicina tradicional, la hierba buena ha sido ampliamente utilizada para curar diversas enfermedades como diabetes, inflamación, fiebre, actividad psicofarmacológica, hepatoprotectora y cólicos. El aceite esencial de menta desde el punto de vista terapéutico se emplea en casos de contracturas, dolores musculares y ayuda en la ansiedad y calmar los nervios, en casos de insomnio.

En la medicina tradicional iraní usaban la combinación de extracto de menta y miel para el dolor de oído y para no tener una lengua áspera colocaban las hojas en la lengua, se recomendaba masticar las hojas para mitigar el dolor de dientes, el extracto de las hojas se bebía para detener la hemorragia.

La medicina tradicional china la empleaba para expulsar el calor, el viento, despejar la cabeza y los ojos, eliminar el estancamiento del hígado y las erupciones.

En la medicina tradicional de la india, se usaba para problemas de piel, dolor de cabeza, trastornos digestivos y las hojas en caso de ictericia. (11)

El sistema tradicional sudafricano utilizaba la menta verde en tratamiento de trastornos respiratorios: resfriados, asma y tos se usaba la decocción de las hojas. En Turquía según datos de la medicina tradicional usaban una infusión de las partes aéreas para tratar los resfriados y la decocción de una rama para aliviar la tos. (12)

Otros usos:

En la cocina se emplea las hojas como condimento, para aderezar carnes de caza, de cordero. En ensaladas, sopas, y cócteles tradicionales.

La menta por su agradable aroma y refrescante sabor tiene múltiples usos industriales en

la fabricación de caramelos, chicles, helados, refrescos, licores, esencias, ungüentos, pomadas, pastas, dentífricos y limpiadores dentales. (13)

Actividades Farmacológicas:

Actividad antimicrobiana

En investigaciones experimentales in vivo o in vitro demostraron que aceites esenciales y extractos de *M. spicata* exhiben actividades biológicas muy importantes como antidiabéticos, antiinflamatorios, antimicrobianos, antiparasitarios y anticancerígenos. Los diferentes extractos orgánicos revelaron actividad antifúngica frente a *Cryptococcus neoformans*, *Microsporum audouinii*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*. Esta especie vegetal posee propiedades antibacterianas frente a cepas bacterianas, clínicas o de referencia. (14, 15)

El extracto etanólico de *M. spicata* demostró actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Salmonella paratyphi*, *Acinetobacter* spp. y *Klebsiella pneumoniae*, mostró halo de 21 mm de diámetro. (16)

El aceite esencial de menta presentó efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Acinetobacter* spp. y *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, la cepa de *Staphylococcus aureus* obtuvo un halo de 21mm. (17)

Investigadores reportaron que el extracto de menta verde utilizando 100% agua, 80% metanol, 80% etanol y 80% acetona como solvente frente a *P. multocida*, *B. subtilis*, *E. coli* y *S. aureus*, presentan actividad antibacteriana; los resultados determinaron que todas las muestras exhibieron inhibición contra todas las bacterias debido a la presencia los ácidos fenólicos y flavonoides y (18).

También hay evidencia que los extractos de *M. spicata* actúan en diabetes, cáncer y enfermedades inflamatorias. Los extractos inhiben o activan dianas y/o vías implicadas en estas patologías, incluidos los receptores de membrana, las dianas moleculares y las vías de señalización. (18, 19)

Actividad analgésica, antiinflamatoria y antipirética

Estudio realizado demostró que el extracto metanólico de *Mentha spicata* tiene actividad analgésica, antiinflamatoria y antipirética de dosis dependiente, lo que valida su uso como fármaco analgésico, antiinflamatorio y antipirético en la medicina tradicional.

En una Investigación realizada se demostró que el extracto metanólico de hojas, administrado por vía intraperitoneal en ratas a dosis de 500 mg/kg disminuyó la

temperatura corporal en la hipertermia inducida por levadura de cereza en ratas. El control positivo paracetamol, mostró un efecto antipirético significativo ($p < 0,05$) a la dosis de 100 mg/kg a las 3 h. de administrado. (20)

Actividad antidiabética e hipolipemiante.

Se demostró efecto antidiabético del extracto acuoso de la parte aérea de *M. spicata* administrado en ratas diabéticas con estreptozotocina (STZ). Los resultados indicaron que la administración del extracto disminuyó el nivel de glucosa ($p < 0,0001$), en ratas diabéticas, en ratas normales no hubo reducción del nivel de glucosa en sangre. (21)

En un estudio reciente, se determinó que el extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de menta administrado en ratas a las que se les indujo con aloxano a hiperglucemia en dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg redujo los triglicéridos, y la glucosa en sangre, las LDL, el colesterol sérico y las VLDL, mientras que mejoró el peso corporal y los niveles de HDL. (22)

Actividad antiemética

Un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego. Antes del estudio, los pacientes que recibieron quimioterapia, fueron asignados al azar a cuatro grupos para recibir aceite esencial *M. spicata* o *M. x piperita*. Los resultados indican la ausencia de efectos adversos, llegando a la conclusión que los aceites esenciales de *M. spicata* o *M. x piperita* son efectivos para el tratamiento antiemético y seguros (23).

Actividad antioxidante

El aceite esencial de *M. spicata* demostró tener actividad antioxidante con $IC_{50} = 41,2 \mu\text{g/mL}$. La capacidad antioxidante de la S-carvona aislada de *M. spicata* se determinó mediante DPPH, ensayo antioxidante del ácido linoleico y el poder reductor. (24)

Se evaluaron cuatro fracciones de extracto etanólico de menta, para determinar su capacidad antioxidante total se utilizó el ensayo ABTS. Según resultados la mayor actividad antioxidante total fue de la fracción de acetato de etilo (83%) y la fracción acuosa (75%). (25)

Actividad hepatoprotectora

Estudios realizados reportan efecto protector del hígado del extracto acuoso de menta, a una dosis de 100 mg/kg en ratas a las que se le produjo daño oxidativo en el hígado y eritrocitos por acción de nicotina; los resultados demuestran disminuyó la fosfatasa alcalina (ALP), la aspartato aminotransferasa (AST), la alanina aminotransferasa sérica (ALT), la catalasa (CAT), la lactato deshidrogenasa (LDH), la glutatión peroxidasa (GPx) y el superóxido dismutasa (SOD) y una fuerte reducción de la peroxidación lipídica

(TBARS) en los eritrocitos y el hígado en comparación con las ratas tratadas con nicotina. (26).

Mejora el aprendizaje y la memoria

La revista de Medicina alternativa y complementaria en una investigación cuyo objetivo fue demostrar los efectos del extracto acuoso de menta sobre el rendimiento cognitivo, el estado de ánimo y sueño en personas sanas, con problemas esporádicos de memoria y puntuales vinculados con su edad. Los resultados determinaron que hubo mejora en este grupo de población referente a la salud cognitiva, al haberse administrado el extracto de menta. (27).

El extracto patentado de menta verde que contiene 14,5 % de ácido rosmarínico y 24 % de contenido fenólico total ha demostrado en personas de 50 a 70 años con deterioro de la memoria después de la suplementación crónica efectos positivos sobre la cognición. Se evaluaron los efectos nootrópicos del extracto de menta patentado se traducen en cambios en la agilidad reactiva luego de la suplementación diaria del extracto, se concluye que el consumo de 900 mg de extracto de menta mejoró medidas la agilidad reactiva en una población joven y activa. (28)

Actividad antiparasitaria

Estudios por Koumad y Berkani demostraron que las hojas de hierba buena presentan la actividad acaricida, según los resultados mostraron que mató *Varroa destructor* en 26, 20 % y en un 2,35 % redujo la tasa de infestación, mientras que en la tasa de mortalidad fue de 30,65% y 13,18% la tasa de infestación (29)

Los investigadores Zandi-Sohani y Ramezani, demostraron que el aceite esencial de las hojas de menta verde recolectadas en el suroeste de Irán presentó efecto antiparasitario contra *Tetranychus turkestani*. Los resultados determinaron que el aceite esencial de menta verde posee un potencial acaricida y se puede emplear para protegerse de *Tetranychus turkestani*, puede causar mortalidad en un 100% en adultos a una concentración de $20 \mu\text{L/L}$, la concentración letal (LC_{50} y LC_{95}) para el aceite esencial de menta verde se estimaron en $15,3 \mu\text{L/L}^{-1}$ y $23,4 \mu\text{L/L}^{-1}$, respectivamente. (30)

Se llevaron a cabo estudios farmacológicos in vivo o in vitro para respaldar el empleo general de extractos y aceite esencial de *M. spicata* que demostraron muchas propiedades biológicas, como actividad antinociceptiva, antiinflamatoria, larvicida, actividad antiandrogénica, actividad hepatoprotectora, actividad antidiabética, antibacteriana y actividad antifúngica.

En investigaciones científicas futuras se deben evaluar en profundidad el posible estudio

clínico adverso, el mecanismo de acción en el modelo animal y la farmacocinética de los extractos y sus constituyentes químicos biológicamente activos para evaluar la toxicidad y eficacia clínica de *M. spicata* en humanos.

Contraindicaciones y efectos secundarios: Se contraindica en pacientes con cálculos biliares. La administración interna del aceite de menta puede ocasionar daño severo del hígado, oclusión de los conductos biliares, inflamación de la vesícula biliar, y las personas que padecen de cálculos biliares podrían presentar de cólicos debido al efecto colerético (31). Si la forma de uso y las dosis son las adecuadas, no habrían efectos secundarios del aceite de menta.

Toxicidad: el aceite de menta produce reacciones de hipersensibilidad, en algunos pacientes produce rash cutáneo eritematoso, bradicardia, cefalea, pirosis, tremor muscular ataxia y cefalea (32). La aplicación de preparaciones que contengan mentol, en niños menores de 2 años, para el tratamiento del resfriado puede causar colapso; al mentol se les atribuye las reacciones alérgicas, Preferible no utilizar más de 12 días seguidos porque puede causar daño al corazón. No se debe usar en personas con hernia hiatal o daño severo en el hígado, con obstrucción en el tracto biliar, colecistitis, piedras en vejiga, ya que puede empeorar la enfermedad. Una sobredosis de aceite ha producido lesiones cerebrales. No hay reportes de casos de envenenamiento. La dosis mínima letal de mentol es 2g, sin embargo, algunos pacientes han sobrevivido a dosis superiores a los 9g. (33)

Bacterias patógenas

Definición: Son aquellas que causan daño en el hospedero y producen enfermedades infecciosas. Presentan distintos factores de virulencia. A su vez los factores de virulencia son las proteínas que ayudan a que la bacteria presente virulencia sobre la célula eucariota. Lo que permite la infección, otro factor son los mecanismos de interacción con la célula de mamífero. Existen enfermedades infecciosas como el cólera, difteria, escarlatina, sífilis, lepra, tifus, producidas por bacterias patógenas. Las infecciones bacterianas mortales y más comunes son las infecciones respiratorias (34).

Staphylococcus aureus.

Bacterias Gram-positivas, miden entre 0,5 y 1,5 micras de diámetro, se asemejan a racimos de uva (35). *Staphylococcus aureus* es un organismo oportunista que puede colonizar los objetos con los que tenemos contacto y los alimentos que consumimos ocasionando deterioro en la salud. Dicho género tiene una gran capacidad de adaptación, afecta a los mamíferos incluyendo a los roedores. (36).

En los humanos provoca infecciones en la piel: foliculitis, forúnculos, celulitis, impétigo y que se limitan a una pequeña área de la piel de una persona. Puede producir enfermedades tales como neumonía, síndrome de shock tóxico, artritis séptica o intoxicación por alimentos.

Como medidas de control higiénico se recomienda aplicar las prácticas de higiene personal a la hora de cocinar los alimentos, así como manipular los instrumentos hospitalarios (37).

Escherichia coli

Bacteria Gram negativa, es un anaerobio facultativo, su hábitat es el intestino de animales de sangre caliente presenta flagelos peritricos que le permiten moverse (38, 39). Se localiza en heces de humanos y animales, es un indicador de contaminación fecal y presencia de patógenos en agua y alimentos. Cepas de E. coli producen enfermedades extraintestinales en humanos y diarrea (40, 41). En 1982 en Estados Unidos se reportó como agente causal de un brote que afectó al menos a 47 personas en Oregón y Michigan por el consumo de carne de hamburguesa poco cocida (42). Esta bacteria se encuentra en las heces del ganado sano y es transmitida al hombre por la ingestión de productos bovinos; verduras frescas, bebidas contaminadas, y a través del contacto persona a persona (43).

Antecedentes de la investigación

Cabrera E. (2021). La presente investigación tuvo como propósito determinar el efecto antibacteriano in vitro de los extractos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Mentha spicata* (hierba buena) sobre *Escherichia coli*. Kirby Bauer fue el método empleado. Los resultados determinaron que *Mentha spicata* al 100% posee sensibilidad media y el extracto 100% de *Rosmarinus officinalis* posee alta sensibilidad frente las cepas de *E. coli*. Se concluye una sensibilidad media al extracto de *Mentha spicata* sobre cepas de *Escherichia coli*. y una sensibilidad alta el extracto etanólico 100% de *Rosmarinus officinalis* (44)

Sanches G, Vásquez C. (2021). Se tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano In vitro de los extractos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Mentha spicata* (hierba buena) sobre *Staphylococcus aureus*. La técnica empleada fue de difusión en pozo. Los resultados evidenciaron un halo de inhibición de 24,89 mm, y 26,88mm, con respecto al extracto etanólico de romero al 50% frente a *Staphylococcus aureus*, mientras que la Hierba buena obtuvo halo de inhibición de 8,57 mm y de 13,00 mm al 100%, el control positivo 32,02 mm. y el control negativo (etanol) obtuvo halo de inhibición de 6,16 mm y. Se concluyó que los extractos etanólicos al 50% y 100% de *Rosmarinus officinalis* y *Mentha spicata*. presenta efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* (45).

Fernández G, Perales K. (2021). La investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano de los extractos de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” sobre *Staphylococcus aureus*. Los extractos acuoso y etanólico, se obtuvieron por método de maceración por 24 horas, luego se filtraron y los extractos los cuales se prepararon al 50%, 75% y 100%. Se utilizó el método de difusión de disco en agar o Kirby Bauer. En los resultados no se evidenció efecto antibacteriano de los extractos acuosos, mientras que los extractos etanólicos mostraron halos de inhibición de 19,76, 18,35 y 17,55 mm para las concentraciones del 50%, 75% y 50% respectivamente, para los análisis de los datos se empleó estadísticas descriptivas, pruebas de normalidad y la prueba de Tukey. Se concluye que el extracto etanólico si presenta efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* y el extracto acuoso de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” no presenta efecto antibacteriano. (46)

Huanca et al. (2018). Realizó una investigación cuyo objetivo principal fue determinar el efecto antifúngico del extracto etanólico de la *Mentha spicata* (hierba buena) contra cultivos de *Cándida albicans*. Se empleó el método de difusión en agar. Los resultados evidenciaron halos de inhibición del extracto etanólico de *Mentha spicata* a concentraciones de 15% (9.8mm), 25% (12.7mm), 35%

(15.6mm), 50% (14.5mm), 65% (11.4mm), 85% (24.8mm) y 100% (19.8mm); la concentración 85% del extracto tuvo la mayor concentración inhibitoria contra *Candida albicans*. Se concluyó que el extracto etanólico de *Mentha spicata* presentó efecto antifúngico frente a *Cándida albicans*. (47)

Nepo S. et al. (2021). El objetivo de la investigación fue demostrar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L, “hierba buena” y *Piper aduncum* L “matico” en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*. Se utilizó el método de difusión agar con discos impregnados con los extractos a concentraciones de 100, 75 y 50% sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, se empleó como control positivo vancomicina. Los resultados obtenidos indicaron que el extracto hidroalcohólico de hierba buena presentó un halo de inhibición del 100% de 17,2 mm, al 75% un halo de 29,9 mm y al 50% un halo de 41,42 mm. Con respecto al extracto hidroalcohólico del matico presentó un halo de inhibición del 100% de 27,3 mm, al 75% un halo de 39,59 mm y al 50% un halo de 45,54mm.. Se llegó a la conclusión que sobre *Staphylococcus aureus* el *Piper aduncum* L “matico” presentó un mayor efecto antibacteriano que la *Mentha spicata* L, “hierba buena” (48).

Kan Habib et al. (2023). El objetivo fue evaluar el efecto bactericida de nanopartículas de plata sintetizadas verdes recubiertas de quitosano utilizando extracto acuoso de menta espiga (MSaqu) contra patógenos bacterianos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* y *Serratia marcescens*. El método para la síntesis y caracterización de nanopartículas de plata (MSAgNP) se llevó a cabo mediante espectrómetro de absorción atómica y espectroscopia infrarroja transformada de Fourier. También se usaron métodos de difusión en pocillos de agar y discos de agar para evaluar la antibacteriano y efecto sinérgico de nanopartículas de plata biogénicas mediadas por quitosano y antibióticos estándar. Los resultados evidenciaron un efecto sinérgico contra *Klebsiella pneumonia* ($8,5 \pm 0,25$ mm $\uparrow$), *Pseudomonas aeruginosa* ($8,5 \pm 0,25$ mm $\uparrow$), *Serratia marcescens* ($19,0 \pm 1,0$ mm $\uparrow$) y un efecto aditivo fue exhibido por *Escherichia coli* ($9,0 \pm 0,0$ mm), *Staphylococcus aureus* ($7,5 \pm 0,25$ mm $\downarrow$) y *Streptococcus pyogenes* ($10,0 \pm 0,0$ mm). mostraron efectos antagónicos cuando se aplicaron nanopartículas de plata recubiertas de quitosano (CLMSAgNP) en comparación con quitosano, MSaqu y MSAgNP. Se concluye se podrían usar como agentes antimicrobianos las nanopartículas de plata biogénica recubiertas de quitosano tienen efectos bactericidas potenciales contra patógenos infecciosos. (49)

Existiendo evidencias de las propiedades curativas para la salud, que nos ofrece la menta, nos llevó a plantear

Objetivo general

Determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

Objetivos específicos

- Determinar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L.
- Determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1 Tipo de investigación

Transversal

Nivel de investigación

Básico

Diseño de investigación

Experimental

Población y muestra

Población vegetal:

Mentha spicata L.

Población microbiana:

Cepas de *Staphylococcus aureus*

Cepas de *Escherichia coli*

Muestra vegetal

Hojas de *Mentha spicata* L.

Procedimientos:

Obtención del material vegetal:

La muestra vegetal se adquirió en tienda naturista ubicada en la calle tumbes en la ciudad de Ica. Una cantidad aproximada de 100 g de hojas frescas, una muestra representativa de toda la planta se llevó a un especialista para su identificación botánica. El resto de las hojas se llevaron al laboratorio de Farmacognosia para su tratamiento.

Tratamiento del material vegetal:

Selección

Esta etapa es importante, se observaron las hojas que estaban en buen estado de conservación y aquellas que estaban picadas, ennegrecidas o deterioradas se procedió a eliminarlas, se seleccionaron las hojas que presentaban en buen estado de conservación y aquellas que se encontraron en malas condiciones se eliminaron.

Lavado

Las hojas de *Mentha spicata* se optó por lavarlas con abundante agua corriente y después con agua destilada, para eliminar el polvo presente en la superficie. No se recomienda dejarlas remojando en agua, porque se absorbería el agua y ello no ayudaría a un buen secado

Desecación

Esta etapa es primordial, lo que se buscó es eliminar la humedad, se emplearon dos tipos de secado:

Desecación natural bajo sombra: En una mesa se colocó papel se colocó papel kraff, y encima se colocaron las hojas ya limpias en lugar ventilado por aproximadamente 07 días, se controló diariamente el secado observando si hubiese hojas deterioradas.

Desecación artificial: Una vez que terminó el desecado natural, se trasladaron las hojas al laboratorio, para colocar las hojas en las bandejas de la estufa a una a temperatura 40°C. Por dos horas. Se debe cuidar que la desecación sea la adecuada, si se conservarán húmedas las hojas, se deterioran y ello ayudaría a la proliferación de microorganismos. (50)

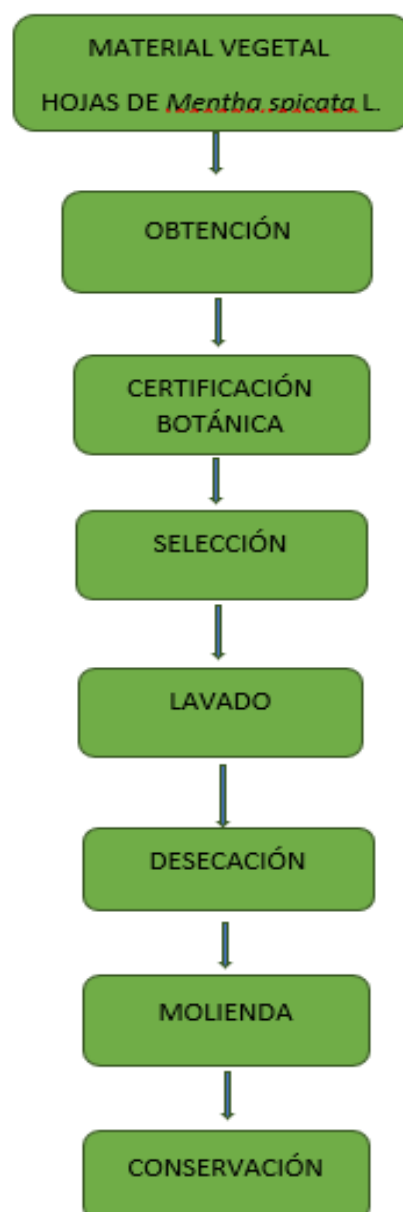
Molienda

Para la molienda de las hojas, se usó un molino analítico, se colocaron las hojas secas un tanto partidas dentro del molino, se tapó y conectó a la corriente se presionó con la tapa y empezó el proceso. Para el proceso de la molienda de las hojas de *Mentha spicata*, las hojas no deben ser muy molidas tipo polvo, dificultaría el proceso de extracción de principios activos. (51)

Conservación

Se guardaron en un frasco de vidrio de color oscuro con tapa, las hojas molidas y colocó una etiqueta especificando nombre científico, parte utilizada y la fecha que se almacenó, se protegió de la luz, se almacenó en un ambiente ventilado y limpio. La droga en buenas condiciones de almacenamiento dura hasta 2 años aproximadamente.

FLUJOGRAMA N°1: PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL



Fuente: El autor.

Obtención del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata*:

En una balanza se pesó 20 g de hojas de *Mentha spicata* y se le adicionó etanol de 96° aproximadamente 100 mL, verificando que se cubra la muestra, se tapó y se dejó macerar por 7 días. Luego se filtró en gasa, se exprimió y se volvió a filtrar en papel de filtro. Luego en baño maría se concentró a mitad de volumen para realizar las reacciones de coloración y/o precipitación (50, 51).

Metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico. (51)

Detección de alcaloides

Una vez concentrado el extracto con la ayuda de una pipeta se adicionó una gota del extracto en una primera excavación de la placa se añadió una gota de extracto, una gota de HCl 1% y gota de reactivo de Dragendorff, se dejó en reposo unos 10 minutos, la presencia de un precipitado anaranjado nos indicará que la reacción es positiva. En la segunda excavación se colocó una gota de extracto, una gota de HCl 1% y una gota de reactivo de Mayer se deja en reposo 10 minutos, si aparece precipitado color blanco se considera la reacción positiva.

En una tercera excavación se colocó una gota de extracto, una gota de HCl 1% y una gota de reactivo de Wagner se deja en reposo 10 minutos, si aparece precipitado color marrón se considera la reacción positiva.

En una cuarta excavación se colocó una gota de extracto, una gota de HCl 1% y una gota de reactivo de Hager se deja en reposo 10 minutos, si aparece precipitado color amarillo se le considera la reacción positiva.

Para los resultados debe tener en cuenta si usó 04 reactivos generales de precipitación, para dar como positivo, deben salir 3 o 4 precipitaciones, cabe resaltar que una de las propiedades de los alcaloides es que forman en complejo con los metales pesados y ello hacen que se precipiten.

Detección de Flavonoides

Se empleó la reacción de Shinoda para detectar flavonoides, en una placa excavada, se colocó 1 gota de extracto, 1 gota de HCl Q.P. Se agregaron 02 limaduras de Magnesio se deja reposar 10 minutos la aparición de un color rojo o rosado nos indicará que la reacción es positiva. La coloración rosada o roja se debe a la formación de cloruro y magnesio y hay liberación de hidrógeno

Detección de Taninos

Se empleó la reacción de cloruro férrico, que se emplea para todos los compuestos fenólicos, en este caso para detectar a los taninos en una placa excavada se colocó una gota del extracto y una gota de cloruro férrico al 5%, si aparece un color intenso azul, negro o verde la reacción es positiva.

Detección de Triterpenos y/o esteroides

Para detectar a los triterpenos y/o esteroides se empleó la reacción de Liebermann-Burchard. Se tomó 1 mL de extracto y se colocó en un vaso de precipitación se colocó dentro del baño maría hasta sequedad, se redisuelve con 1 mL de diclorometano y con ayuda de la bagueta se uniformiza y se coloca en un tubo de ensayo y se añadió 1 mL de anhidro acético y 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. si aparece un color rosado, azul, verde oscuro, la reacción es positiva (51)

Detección de Quinonas

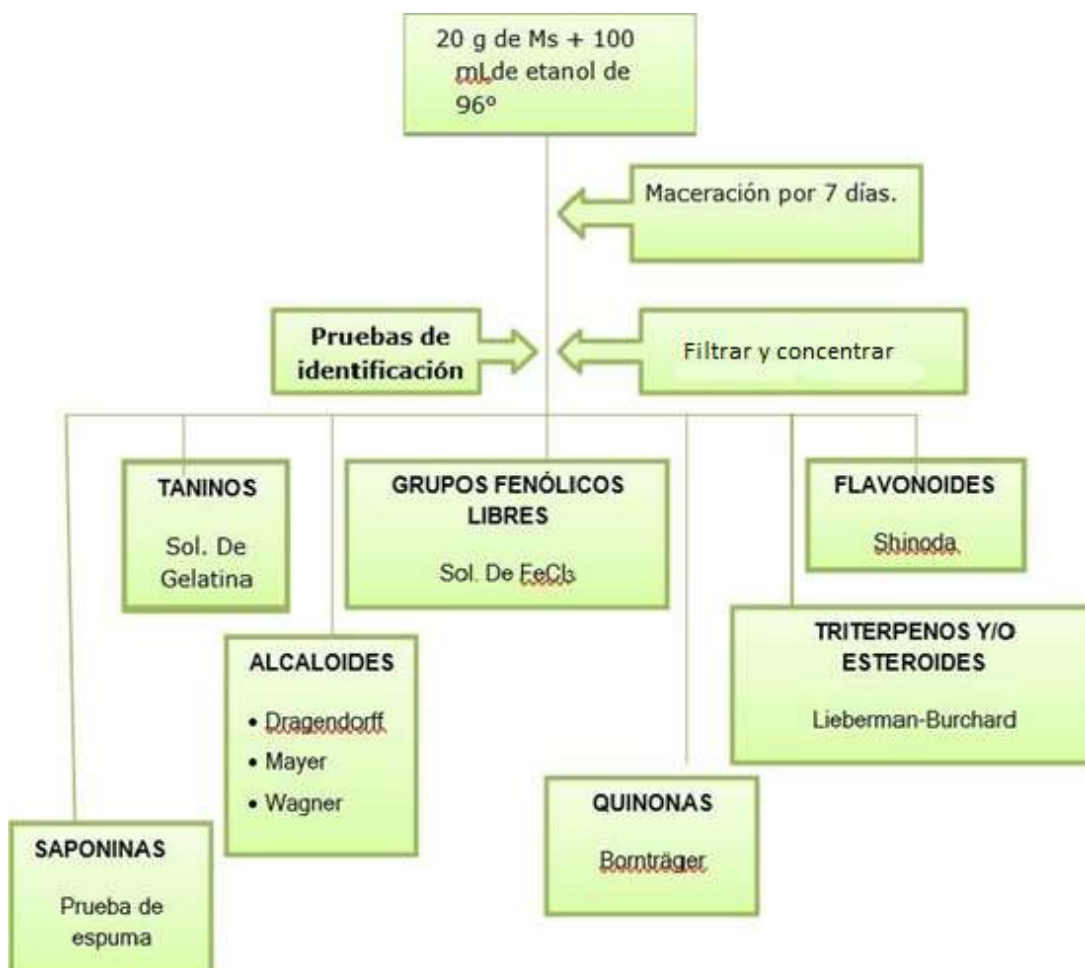
Se empleó la reacción de Borntrager, para detectar a las quinonas se tomó 1 mL del extracto, se llevó a sequedad y se redisuelve con 1 mL de diclorometano en un tubo de ensayo y se añadió 5 mL de NaOH 5% y se agita y deja en reposo 10 minutos, luego si se observa una coloración roja en la fase acuosa la reacción es positiva.

Detección de Saponinas

Se empleó la prueba de espuma para detectar saponinas se colocó en un tubo de ensayo 1 mL del extracto y se añadió 2 mL de agua destilada y se agitó durante 1 minuto, dejó en reposo unos 5 minutos, la reacción es positiva si aparece espuma.

Figura N°2

Metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico de las hojas de *Mentha spicata* L.



Fuente: El autor

Preparación del extracto etanólico para ensayos microbiológicos

Se empleó la técnica de maceración por 48 horas. Se utilizó 50 g. de la muestra de hojas de *Menta spicata* L. y en un matraz erlenmeyer se añadió 100 mL de etanol de 96° se agitó 3 a 4 veces por día. Luego se filtró en tela y después en papel de filtro, el extracto el cual se llevó hasta sequedad (50, 51).

Preparación del medio de cultivo

Los materiales de vidrio: pipetas, baguetas, matraces, balones, tubos de prueba, viales, embudos de vidrio, discos de papel whattman, torundas, etc, fueron sometidos al horno eléctrico a 180°C por 1 hora, para su esterilización.

El medio de cultivo sólido empleado fue Mueller–Hinton, se preparó pesando 39 g de medio en 1 L de agua destilada, se calienta llegando a ebullición, lo que se debe tener en cuenta es que disuelva completamente. Luego se colocaron en frascos de vidrios y se esterilizan en la autoclave por 15 min y 15 lb de presión. (52).

Determinación del efecto inhibitorio

Inoculación de las bacterias en la placa de Mueller Hinton-agar

A partir de una placa de cultivo de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, se cogió 3-5 colonias con un asa y se ajustó el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de McFarland en suero fisiológico, se agitó durante 15-20 segundos. En un tiempo óptimo de 15 minutos después se ajustó la turbidez de la suspensión del inóculo, luego un hisopo se introdujo en ella para la inoculación. Debe rotarse el aplicador varias veces y presionado firmemente contra la pared interna del tubo sobre el nivel de líquido. Se inoculó en la superficie de una placa de Agar Mueller–Hinton extendiendo el hisopo de un extremo a otro sobre toda la superficie. Este procedimiento es repetido dos o más veces, rotando la placa aproximadamente 60° C después de cada aplicación para asegurar una distribución constante del inóculo. Finalmente se pasó sobre los bordes del Agar.

Se dejaron las tapas de la placa entreabiertas por 3 a 5 minutos, para evitar un exceso de humedad de la superficie de (52). El método de Kirby Bauer se lleva a cabo por medio de un frotis sobre cada una de la superficie del Agar Mueller- Hinton. Luego se impregnó 25 µL de cada uno de los extractos de diferentes concentraciones de 100, 50 y 25% el control positivo (Ampicilina 10 µg) y control negativo (etanol) en cada uno de los discos de papel filtro (Whatman No. 42) por triplicado y se colocó sobre las superficies del agar. Se incubó las placas invertidas a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ por 18 horas

(bacterias). (53), Posteriormente se procedió a medir los halos de inhibición de los discos, en mm. con ayuda de una regla.

Para la determinación del porcentaje del efecto inhibitorio se empleará la siguiente formula:

$$\% \text{ efecto inhibitorio} = \frac{\text{Media diámetro halo de inhibición}}{\text{Diámetro halo de inhibición control positivo}} \times 100$$

III. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico de las hojas de *Menta spicata* L.

METABOLITO	REACCIÓN	RESULTADO
Flavonoides	Shinoda	+
Taninos	Cloruro férrico	+
Saponinas	Prueba de espuma	-
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann-Burchard	+
Quinonas	Borntrager	-
Alcaloides	Dragendorff	+
	Mayer	+
	Wagner	-
	Hager	+

Fuente: El autor

Interpretación:

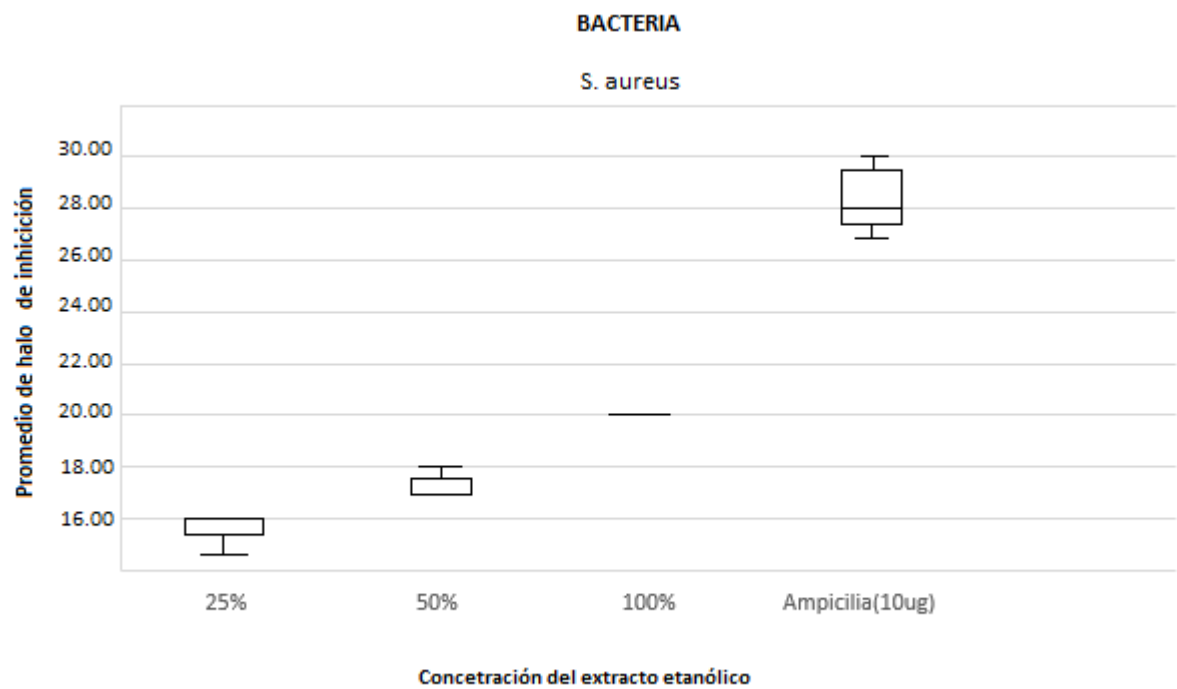
(+): Presencia o positivo

(-): Ausencia o negativo

Tabla 2. Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Menthaspicata* L. frente a *Staphylococcus aureus*

Halos de inhibición a diferentes		Concentraciones		Control positivo
Placa	100%	50%	25%	
1	20	18	16	27
2	19	17	16	28
3	20	17	15	30
Promedio	20	17	16	28

Figura 3. Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Menta spicata* L.frente a *Staphylococcus aureus*



La concentración del 100% del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. mostró mayor halo de inhibición frente a *S. aureus* (20 mm) con respecto a la concentración de 50% y 25% que alcanzaron diámetros de 17 mm y 16 mm respectivamente.

Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas

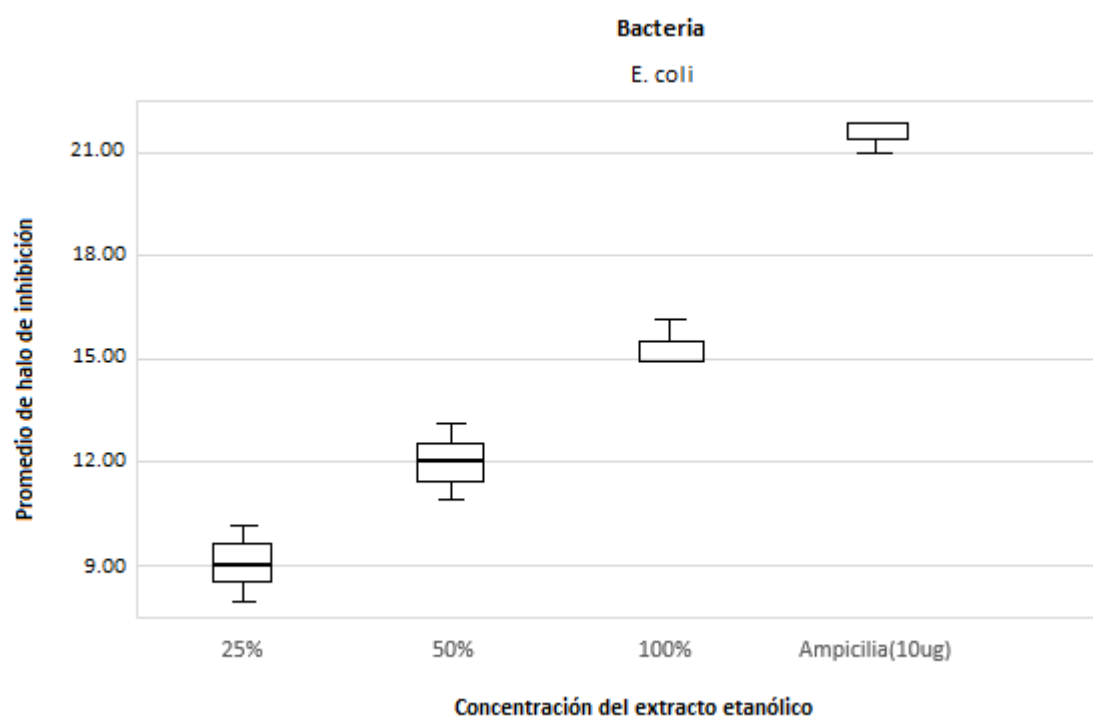
Diámetro del halo de inhibición			
Estadístico de levene	gl1	gl2	Sig
2,084	3	8	,181

En la tabla 3 se muestra los resultados del análisis de la prueba de homogeneidad de varianzas. Se observa una significancia de 0.181 por lo tanto, existe homogeneidad de varianzas en los grupos de análisis.

Tabla 4. Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. frente a *Escherichia coli*

Halos de inhibición a diferentes Concentraciones				Control positivo
Placa	100 %	50 %	25 %	
1	15	11	10	21
2	16	13	09	22
3	15	12	08	22
Promedio	15	12	09	22

Figura 4. Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L.frente a *Escherichia coli*



La concentración del 100% del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. mostró mayor halo de inhibición frente a *Escherichia coli* (15 mm) con respecto a la concentración de 50 y 25% alcanzaron diámetros de 12 mm y 09 mm respectivamente.

Tabla 5. Prueba de homogeneidad de varianzas

Diámetro del halo de inhibición			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
4,199	3	8	,046

En la tabla 5 se muestra los resultados del análisis de la prueba de homogeneidad de varianzas. Se observa una significancia de 0.046 por lo tanto, existe diferencia de varianzas en los grupos de análisis.

Tabla 6. Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. a diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

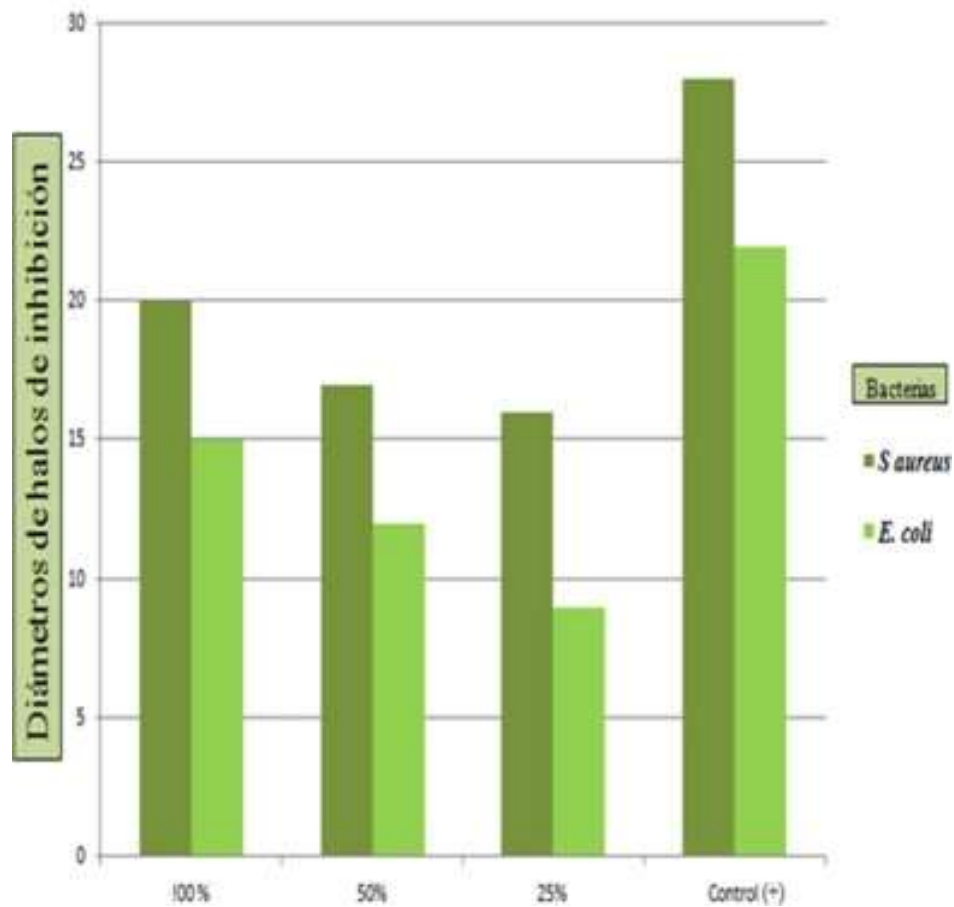
Bacterias	Diámetro (mm) de halos de inhibición a diferentes concentraciones (mg/mL)			Control (+) mm
	100%	50%	25%	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	20	17	16	28
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13216	15	12	09	22

Fuente: El autor

Donde:

- Control Positivo = Ampicilina (10 µg)
- C.N.= Etanol 96°

Figura 5. Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. a diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*



Los promedios de diámetros, de los halos de inhibición, revelados por el efecto inhibitorio del extracto etanólico a diferentes concentraciones frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, mostraron que la mencionada cepa tiene mayor sensibilidad frente al extracto etanólico al 100% con halos de inhibición de 20 mm de diámetro.

Tabla 7. Porcentaje de inhibición relativa (PIR) del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

Microorganismo	Diámetro (mm) de halos de inhibición a diferentes concentraciones (%)			Control (+)	PIR
	100	75	50	mm	(%)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	20	17	16	28	71 %
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13216	15	12	09	22	68 %

X³= Promedio de tres repeticiones

- C.P. = Ampicilina (10ug)
- P.I.R.= Porcentaje de Inhibición Relativa

El mayor porcentaje de inhibición relativa (PIR), del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. a una concentración de 100%, se obtuvo frente las cepas de *Staphylococcus aureus* con 71%, lo que permitió comprobar el efecto antibacteriano significativo del extracto estudiado frente la cepa mencionada.

El porcentaje de inhibición relativa (PIR), del etanólico de hojas de *Mentha spicat* L. a una concentración de 100% frente las cepas de *Escherichia coli* fué de 68% inferior al efecto antibacteriano obtenido frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

IV. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se determinó el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* mediante el método de difusión en disco. Los promedios de diámetros, de los halos de inhibición, revelados por el efecto inhibitorio del extracto etanólico estudiado a diferentes concentraciones frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, mostraron que la mencionada cepa tiene mayor sensibilidad frente al extracto etanólico al 100% con halos de inhibición de 20 mm de diámetro similares a los resultados obtenidos por Fernández G, Perales K. en el estudio titulado “Efecto antibacteriano de los extractos etanólico y acuoso de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” sobre *Staphylococcus aureus*” con halos de inhibición de $19,76 \pm 0,33$; $18,35 \pm 0,34$ y $17,55 \pm 0,33$ para las concentraciones del 100%, 75% y 50% respectivamente a diferencia de lo obtenido por Sanches G, Vásquez C. en el estudio titulado “Efecto antibacteriano in-vitro de los extractos de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Mentha spicata* (Hierba buena) sobre *Staphylococcus aureus*” cuyos resultados obtenidos al 100% fue de 13,00 mm. La concentración del 100% del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. mostró sensibilidad intermedia frente a *Escherichia coli* (15 mm) en concordancia con lo obtenido por Cabrera E. que determinó sensibilidad media del extracto de *Mentha spicata* sobre cepas de *Escherichia coli*.

La presencia de los siguientes metabolitos secundarios: Triterpenos y esteroides, alcaloides, flavonoides y taninos los cuales se presumen ser responsables del efecto inhibitorio y constituyen los mejores remedios naturales para combatir procesos infecciosos del aparato respiratorio (gripe, bronquitis, faringitis etc.) (**Tabla 1**).

V. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de *Mentha spicata* L. al 100% si posee mayor efecto inhibitorio frente a las cepas de *S. aureus*, mostrando mayor sensibilidad frente al mencionado extracto.
2. La concentración del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. al 100% frente a *Escherichia coli*, presentó halos de inhibición de 15 mm mostrando sensibilidad intermedia.
3. Las reacciones de identificación de metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Mentha spicata* L. nos permitió determinar la presencia de flavonoides, taninos, triterpenos, alcaloides, de los cuales en mayor abundancia se obtuvo triterpenos y alcaloides.
4. El mayor porcentaje de inhibición relativa (PIR), del extracto etanólico de hojas de *Mentha spicata* L. a una concentración de 100%, se obtuvo frente las cepas de *Staphylococcus aureus* con 71% y frente las cepas de *Escherichia coli* con 68%.

VI. RECOMENDACIONES

1. Evaluar el extracto etanólico de *Mentha spicata* L. frente a hongos, virus y otras bacterias; a fin de corroborar otras propiedades terapéuticas.
2. Detectar a los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Mentha spicata* L. a nivel instrumental (mediante técnicas espectroscópicas), lo que puede ayudar a determinar el potencial efecto de esta planta.
3. Realizar otros estudios con otros antibióticos para comparar su efecto y así poder combatir las infecciones causada por *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.
4. Continuar en las investigaciones en planta medicinales que posean principios activos con propiedades antibacterianas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Ponce A y Millones P. Efectividad antibacteriana de productos naturales frente a microorganismos patógenos de la flora oral. Ciencias de la Salud [en línea] 2015 [fecha de acceso 10 de setiembre del 2017]; 2 (2): 530-537. Disponible en: <http://revistas.uladech.edu.pe/index.php/increscendo-salud/article/viewFile/946/827>
2. Oliveira M, Velásquez d, Bermudez A. La investigación etnobotánica sobre las plantas, una revisión sobre sus objetivos y enfoques [en línea] 2005 [fecha de acceso 12 de enero del 2023]; 30 (8) : 453-459. Disponible en : <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1373833>
3. Menyiy N el, Mrabti HN, Omari N el, Ei Bakili A, Bakrim S, Mekkaoui M, et al. Medicinal Uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology of *Mentha spicata*. 2022 [citado 12 de febrero de 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2022/7990508>.
4. V.Mozzafarian Diccionario de plantas iraníes. 1996 [en línea] 1996 disponible en : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2225411017301037?via%3Dihub#bib>
5. G. Kunwar, C. Pande y G. Tewari, "Composición del aceite esencial de las partes aéreas de la mentha spicata L." *Revista de plantas con aceite esencial JEOP* , vol. 13, núm. 3, págs. 353–356, 2017. Disponible en : https://wjpr.s3.ap-south-1.amazonaws.com/article_issue/1496224193.pdf
6. M. Bayani, M. Ahmadi-hamedani y A. Jebelli Javan, "Estudio de las actividades hipoglucémicas, hipocolesterolémicas y antioxidantes del extracto acuoso de hojas de mentha spicata iraní en ratas diabéticas", *Revista iraní de investigación farmacéutica: IJPR*, 16 (8): 75 - 82, 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5963648>
7. Mahboubi, M. *Mentha spicata* L. Aceite esencial de Mentah spicata L., fitoquímica y su eficacia en la flatulencia. [en línea] 2021 [citado el 01 de marzo 2023] *Revista de Medicina Tradicional y complementaria*. 11 (2), 75-81. Disponible en <https://doi.org/10.1016/J.JTCME.2017.08.011>
8. Mamani B, Martinez E. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Mentha spicata* L. sobre la flora mixta salival. [tesis de pregrado] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos Perú; 2013. Disponible en: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880049/actividad-antibacteriana-de-aceite-esencial-de-mentha-spicata-l_CjZjAMP.pdf

9. N. Zekri, H. Elazzouzi, F. El Makhoukhi, M. Alaoui El Belghiti y T. Zair, "Efecto de secado sobre los rendimientos y la composición química de los aceites esenciales extraídos de las partes aéreas de la mentha spicata marroquí (L.)", *Revista de plantas productoras de aceites esenciales* , 22(3) :789–798, 2019.
10. AI Hussain, F. Anwar y M. Shahid, "Composición química y actividades antioxidantes y antimicrobianas del aceite esencial de menta verde (*Mentha spicata* L.) de Pakistán", *Journal of Essential Oil Research* , vol. 22, núm. 1, págs. 78–84, 2010. Disponible en :
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2010.9700269>
11. NJ Montvale , T. Fleming. PDR para medicamentos a base de hierbas.[Internet]2000[citado el 02 de marzo 2023]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35463088/>
12. Mahendran, G., Verma, S. Rahman, L. Usos tradicionales fitoquímica y farmacología de la Menta verde. Una revisión [Internet] 2021 [citado del 04 de marzo 2023]. *Revista de Etnofarmacología* 278, 114266. Disponible en :
<https://doi.org/10.1016/J.JEP.2021.114266>
13. Corporesano.com La menta en el cuidado bucal [en línea] 2019[citado el 01 de marzo 2023]. Disponible : <https://corporesano.com/es/consejo/la-menta-en-el-cuidado-bucal>
14. LMSS Franciscato, MR Silva, F. Andrich et al., "Caracterización química y actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de menta (*mentha spicata* L.) y cereza de surinam (*eugenia uniflora* L.)", *Orbital - The Electronic Journal of Chemistry*, 10(6): 475–481, 2018. Disponible en :
<https://desafioonline.ufms.br/index.php/orbital/article/view/16050>
15. H. Boukhebt, AN Chaker, H. Belhadj, F. Sahli, H. Laouer y D. Harzallah, "Composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Mentha pulegium* L. y *Mentha spicata* L.", *Der Pharmacia Lettre*, 3(4) : 10, 2011. Disponible en :
https://www.researchgate.net/profile/DaoudHarzallah/publication/279908671_Chemical_composition_and_antibacterial_activity_of_Mentha_pulegium_L_and_Mentha_spicata_L_essential_oils/links/5e3dc22d299bf1cdb9171907/Chemical-composition-and-antibacterial-activity-of-Mentha-pulegium-L-and-Mentha-spicata-L-essential-oils.pdf.
16. Qadir Ma, Shahzadi Sk, Bashir A, Munir A, Shahzad A. Evaluación de compuestos fenólicos y actividades antioxidantes y antimicrobianas de algunas hierbas comunes. *Rev. Química Analítica* vol 2017 artículo ID 3475738, 6 páginas. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2017/3475738>.

17. Zaidi S, Dahiya P. Actividad antimicrobiana en vitro, análisis fitoquímico y contenido fenólico total del aceite de *Mentha spicata* y *Mentha piperita* Rev. Alimentos 22(6)2015: 2440-2445. Disponible : [http://www.ifrj.upm.edu.my/22%20\(06\)%202015/\(37\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/22%20(06)%202015/(37).pdf).
18. M. Rakebizadeh, M. Zahedizadeh y YE Panah, "Efecto complementario de las nanopartículas de óxido de zinc y extracto de butanol de mentha spicata sobre la glucosa en sangre de ratas wistar diabéticas", Revista de ciencia, ingeniería y tecnología, vol . 3, núm. 5, 2018. Disponible en: <http://journals.researchhub.org/index.php/jrset/article/view/1125>
19. MA Ebrahimzadeh, SM Nabavi y SF Nabavi, *Actividades biológicas de Mentha spicata L.* Farmacología en línea, vol. 1, págs. 841–848, 2010.
20. Yousuf, Patwary MD Hajjaj, et al. "Efecto analgésico, antiinflamatorio y antipirético de Mentha spicata (Hierbabuena)." *Revista británica de investigación farmacéutica* 3.4 (2013): 854-864.
21. Farid, Omar, Ahmed El Haidani y Mohamed Eddouks. "Efecto antidiabético de la menta verde en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina". *Trastornos endocrinos, metabólicos e inmunitarios: objetivos farmacológicos (anteriormente Objetivos farmacológicos actuales: trastornos inmunitarios, endocrinos y metabólicos)* 18.6 (2018): 581-589. Disponible en: <https://www.eurekaselect.com/article/90506>
22. Mehmood M. "Acción antidiabética y antihiperlipidémica de los extractos etanólicos acuosos de mentha spicata (hojas), plumeria alba (hojas) y nymphaea alba (flores y rizomas)". *CIBPA* 6 (2017): 108-124.
23. Tayarani-Najaran Z, Talasaz-Firoozi E, Nasiri R, Jalali N, Hassanzadeh MK. Actividad antiemética del aceite volátil de Mentha spicata y Mentha × piperita en el cáncer de náuseas y vómitos inducidos por quimioterapia. *Rev Quimioterapia* 7290. Disponible en : <https://ecancer.org/en/journal/article/290-antiemetic-activity-of-volatile-oil-from-mentha-spicata-and-mentha-piperita-in-chemotherapy-induced-nausea-and-vomiting/abstract>
24. Niksic, HA, et al. "Caracterización química, propiedades antimicrobianas y antioxidantes del aceite esencial de Mentha spicata L. (Lamiaceae)". *Bull Chem Technol Bosn Herzeg* 50 (2018): 43-8. Disponible en : [Mentha_spicata_L_Lamiaceae_essential_oil/links/5b4dabccaca27217ff9b5156/C-hemical-characterization-antimicrobial-and-antioxidant-properties-of-Mentha-](https://www.researchgate.net/publication/327171756/Mentha_spicata_L_Lamiaceae_essential_oil/links/5b4dabccaca27217ff9b5156/C-hemical-characterization-antimicrobial-and-antioxidant-properties-of-Mentha-)

25. Arumugam, P., P. Ramamurthy y A. Ramesh. "Actividades antioxidantes y citotóxicas de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas de *Mentha spicata* L. (Lamiaceae)". *Revista internacional de propiedades alimentarias* 13.1 (2010): 23-31. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942910802144329>
26. Anouar Ben Saad , Ilhem Rjeibi , Hichem Alimi , Sana Ncib , Talel Bouhamda y Nacim Zouari . Efectos protectores de *Mentha spicata* contra la toxicidad inducida por nicotina en el hígado y los eritrocitos de ratas Wistar. *Fisiología aplicada, nutrición y metabolismo* . **43** (1): 77-83. <https://doi.org/10.1139/apnm-2017-014>
27. Complementosalimenticios.info. Extracto de menta ayuda a mejorar la memoria entre la población mayor de 50 años [Internet]2018. Disponible en <http://complementosalimenticios.info/index.php/noticias/item/242-el-extracto-de-menta-ayuda-a-mejorar-la-memoria-entre-la-poblacion-mayor-de-50-anos>.
28. Paul H. Falcone, Aaron C. Tribby, Roxanne M. Vogel, Jordan M. Joy, Jordan R. Moon, Chantelle A. Slayton, Micah M. Henigman, Joanne A. Lasrado, Brandon J. Lewis, Brenda A. Fonseca, Kristin M. Nieman y Kelli A. Herrlinger . Eficacia de un extracto de menta verde nootrópica sobre la agilidad reactiva: un ensayo paralelo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, Journal of the International Society of Sports Nutrition, 15:1, 2018 DOI: [10.1186/s12970-018-0264-5](https://doi.org/10.1186/s12970-018-0264-5)
29. Koumad, S. y ML Berkani. "Evaluación de la eficacia de cuatro plantas medicinales como fumigantes contra *Varroa destructor* en Argelia". *Archivos de zootecnia* 68.262 (2019): 284-292. Disponible en : https://www.researchgate.net/profile/Kouma2/publication/334260549_Assessment_of_the_efficacy_of_four_medicinal_plants_as_fumigants_against_Varroa_destructor_in_Algeria/links/5d1f7108299bf1547c9b416c/Assessment-of-the-efficacy-of-four-medicinal-plants-as-fumigants-against-Varroa-destructor-in-Algeria.pdf.
30. Zandi-Sohani, Nooshin y Leila Ramezani. "Evaluación de cinco aceites esenciales como acaricidas botánicos contra el ácaro de la fresa *Tetranychus turkestanii* Ugarov y Nikolskii". *Biodeterioro internacional y biodegradación* 98 (2015): 101- 106. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096483051400376X>.
31. PDR for Herbal medicines. 2000 2ª Edición Editorial Medicor Economics Comp USA.
32. Heck, A, DeWitt, B, Likes, A. Potential Interacción between alternative therapeutics and warfarin. *Am J Health-Syst Pharm*. 2000: 57. Pag 1221- 1227.

33. Lagarto Parra Alicia, Tillán Capó Juana, Cabrera González Yolanda. Toxicidad aguda oral del extracto fluido de *Mentha spicata* L. (hierbabuena). *Rev Cubana Plant Med* [Internet]. 1997 Ago [citado 2023 Mar 06] ; 2(2): 6-8. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961997000200002&lng=es.
34. Corsini G. .Bacterias ¿porque me enferman?. [intenet] Universidad Autónoma de Chile 2018 [citado el 05 de marzo 2023]. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915988/gino-corsini-las-bacterias-por-que-me-enferman.pdf>.
35. Harris LG, Foster SJ, Richards RG. An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S.aureus* adhesins in relations to adhesion to biomaterials: Review. *Eur Cells Mater*. 2002 jul-dec; 4(2): 39-60. 2. Fox J, Barthold S, Davisson M, New
36. Fox J, Barthold S, Davisson M, Newcomer C, Quimby F, Smith A editors. *The Mouse in Biomed Research: Diseases*. 2nd Ed. New York: Academic Press; 2007
37. Zendejas-Manzo GS, Avalos-Flores H, Soto-Padilla MY. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomed*. 2014;25(3):129-143.
38. Yang X, Wang H. *Escherichia coli* /Pathogenic *E. coli* (Introduction). En: Batt CA., editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2a ed. Oxford: Elsevier; 2014. p. 695-701.
39. Percival SL, Williams DW. *Escherichia coli*. En: Percival, Yates, Williams, Chalmers, Gray, editors. *Microbiology of Waterborne Diseases, Microbiological Aspects and Risks*. Oxford: Elsevier; 2014. p. 89-117.
40. Estrada T, Lopez C, Thompson R, Abonce M, Lopez-Santos J, Rosado J, DuPont H, Long K. Association of diarrhoeagenic *Escherichia coli* pathotypes with infection and diarrhea among Mexican children and association of atypical enteropathogenic *E. coli* with acute diarrhea. *J. Clin. Microbiol* 2009; 47: 93-98.
41. Kaper J, Nataro J, Mobley H. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev. Microbiol* 2004; 2 (2): 123-140.
42. Riley L, Remis R, Helgerson S, McGee H, Wells J, Davis B et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 1983; 308: 681-5.
43. Kuntz T, Kuntz S. Enterohemorrhagic *E. Coli* infection. *Prim Care Update Ob Gyns* 1999; 6(6):192-96
44. Cabrera E. Efecto antibacteriano in-vitro de los extractos etanólicos de *Rosmarinus*

- officinalis (romero) y menta spicata (hierba buena) sobre *Escherichia coli*. [tesis]. Perú:2012.
45. Sanches G, Vasquez C. (2021). Efecto antibacteriano in-vitro de los extractos de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Mentha spicata* (Hierba buena) sobre *Staphylococcus aureus* [tesis]. Perú: 2021.
 46. Fernández G, Perales K, Hernández R. (2021). Efecto antibacteriano de los extractos etanólico y acuoso de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” sobre *Staphylococcus aureus*[Tesis de pregrado] Lima: Universidad María Auxiliadora. Perú; 2021.
 47. Huanca J, Jaimes P. Ávila J. Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Menthaspicata* (hierba buena) contra cultivos de *Cándida albicans* [tesis]. Perú; 2018.

Disponible en:

<http://repositorio.unid.edu.pe/bitstream/handle/unid/29/7%20Menta%20spicata%20-%20Antifungico.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
 48. Nepo S, Vásquez A, Flores O. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L, “hierba buena” y *Piper aduncum* L “matico” en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*. [tesis]. Perú: 2021. Disponible: <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/467/ACTIVIDAD%20ANTIBACTERIANA%20DEL%20EXTRACTO%20HIDROALCOH%20C3%93LICO%20DE%20Mentha%20spicata%20L.%20%E2%80%9CHIERBA%20BUENA%E2%80%9D%20Y%20Piper%20aduncum%20L.%20%E2%80%9CMA TICO%E2%80%9D20EN%20CEPAS%20CLINICAS%20DE%20Sta.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
 49. Khan H, Andleeb S, Nisar T, Latif Z, Raja SA, Awan UA, et al. Interactions of Chitosan- coated Green Synthesized Silver Nanoparticles using *Mentha spicata* and Standard Antibiotics against Bacterial Pathogens. *Curr Pharm Biotechnol* 2023;24:203–12. <https://doi.org/10.2174/1389201023666220405120914>
 50. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona, España; 2000.
 51. Miranda M, Cuéllar A. Farmacognosia y productos naturales. La Habana 2012.
 52. Ramírez L, Marin D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica* [internet]. Ago 2009 [citado 03 may 2020]; Año XV (42): 263-266P. Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/849/84916714049.pdf>.

53. Pérez A, Rojas J, Rodríguez J, Doncel A, et al. Evaluación de métodos para medir la actividad inhibitoria de extractos vegetales nativos del departamento de Sucre sobre bacterias y levaduras patógenas. Rev. Colombiana cienc. Anim. 2011; 3(1). (Fecha de acceso: 12 Agosto 2017).
Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3691389>

VIII. ANEXOS

Certificación botánica

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

La bióloga colegiada quien suscribe CERTIFICA que, la muestra botánica de la planta conocida con el nombre de "menta" proporcionada por el bachiller Uceda Escate José Miguel; ha sido estudiada científicamente y determinada como *Mentha spicata* L. y de acuerdo con el sistema de clasificación del APG IV (2016), se ubica en la siguiente categoría taxonómica.

REINO	: PLANTAE
DIVISIÓN	: FANEROGAMAS
CLASE	: Equisetopsida
SUBCLASE	: Magnoliidae
SUPER ORDEN	: Asterales
ORDEN	: Lamiales
FAMILIA	: Lamiaceae
GÉNERO	: <i>Mentha</i>
ESPECIE	: <i>Mentha spicata</i> L.
N.V	: "menta"

Se expide la presente certificación a solicitud del bachiller, para los fines que estime conveniente.

Ica 30 de enero del 2023



Bla. Mag. Zoila Magaly Cuba Córdova
Docente botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional "San Luis Gonzaga"

Especie vegetal: *Menta spicata* L



Materiales y reactivos

Reactivos

Etanol 96°

Cloruro de sodio

Reactivos para alcaloides HCl Q, PH_2SO_4 Q.P

Diclorometano

Cloruro férrico

Hidróxido de sodio

Anhidrido acético

Agar tripticasa de soya

Agar Mueller- Hinton

Material biológico

Material vegetal

Cepas bacterianas

Materiales de laboratorio

Hisopos estériles

Papel aluminio

Algodón

Guantes

quirúrgicos

Papel de filtro Whatman

Material vegetal secado molido y almacenado



Obtención del extracto etanólico



Screening fitoquímico



Determinación del efecto inhibitorio







Halos de inhibición de *Mentha Spicata* L. frente a *S. aureus*



Halos de inhibición de *Mentha Spicata* L. frente a *E. coli*





CONSTANCIA

LA DIRECTORA ACADÉMICA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA DE
LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA.

HACEN CONSTAR QUE EL ESTUDIANTE:

UCEDA ESCATE, JOSE MIGUEL

Código N° 20145435

En vías de regularización, se le autoriza el uso de las instalaciones del laboratorio de Farmacognosia, para el desarrollo de su proyecto de tesis, el cual lleva como título **"EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Mentha spicata* L. FRENTE A *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli***, y que aprobado el proyecto deberá presentar un documento con su asesor, indicando los días y horas que hará uso del laboratorio.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Ica, 06 de Marzo 2023

