



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO
DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE
Clinopodium pulchellum"PANISARA" SOBRE *Escherichia coli***

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

AUTOR

AREDO CEDANO, LENIN LUIS

ORCID: 0000-0002-3442-9169

ASESOR

DR. Q.F. VASQUEZ CORALES, EDISON

ORCID: 0000-0001-9059-6394

TRUJILLO – PERÚ

2022

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Aredo Cedano, Lenin Luis

ORCID: 0000-0002-3442-9169

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado
Trujillo, Perú.

ASESOR

DR. Q.F. VÁSQUEZ CORALES, EDISON

ORCID: 0000-0001-9059-6394

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias de la
Salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú.

JURADO

Ramírez Romero, Teodoro Walter

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Matos Inga, Matilde Anais

ORCID: 0000-0002-3999-8491

HOJA DE FIRMA DEL JURADO Y ASESOR

Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero
Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla
Miembro

Mgtr. Matilde Anais Matos Inga
Miembro

Dr. Edison Vásquez Corales
Asesor

AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradecer a Dios quien siempre me ha ayudado a seguir adelante y que me ha permitido lograr una de mis metas, que a pesar de todos mis tropiezos y errores esta siempre conmigo para ayudarme y guiarme por el camino del bien

A mis padres y hermanos quienes siempre me han apoyado incondicionalmente para poder lograr mi meta profesional

A la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote quien me ha permitido realizar mis estudios y así lograr mi meta profesional

DEDICATORIA

A mis padres Andrés y Elvira quienes siempre me inculcado e incentivado a nunca darme por vencido ante los problemas que se presenten en la vida, ellos fueron mi motor y motivo para superarme cada día.

A mis hermanos quienes siempre están ahí para aconsejarme y motivarme di a día para lograr todas mis metas trazadas

A mis Maestros quienes me transmitieron sus conocimientos en el transcurso de mi carrera

RESUMEN

El propósito de esta investigación fue determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) sobre *Escherichia coli*. Esta investigación fue de diseño experimental in vitro con enfoque cuantitativo. Para este estudio los grupos estuvieron formados por: grupo control estándar (Ciprofloxacino), Grupo control Negativo, grupo experimental 1 (*Clinopodium pulchellum* 50%), grupo experimental 2 (*Clinopodium pulchellum* 100%), por cada grupo se consideraron 4 placas Petri que contenían Agar Müller Hilton. Se Determinó el efecto antibacteriano mediante el método de Kirby-Bauer. En cuanto a los resultados los halos de inhibición para las concentraciones de 50%, 100%, control positivo, control negativo fueron: $13.7 \pm 1.45\text{mm}$, $17.0 \pm 1.38\text{mm}$, 32.6 ± 1.4 y 6.0 ± 0.0 , respectivamente, sometidos a la prueba ANOVA. Al comparar la prueba de T student el extracto de *Clinopodium pulchellum* al 100% muestra un efecto superior al extracto hidroalcohólico de *Clinopodium pulchellum* al 50%. A sí mismo, ambas concentraciones fueron menor en comparación al ciprofloxacino. Por lo que es posible inferir, que los resultados obtenidos en este estudio tienen concordancia con lo encontrado en otras especies de la misma familia, que también poseen actividad antibacteriana.

Palabras Claves: *Clinopodium pulchellum*, Efecto Antibacteriano, Extracto, *Escherichia coli*, Hidroalcoholico, in vitro.

ABSTRACT

The purpose of this research was to estimate the in vitro antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Clinopodium pulchellum* (Panisara) on *Escherichia coli*. This research was of in vitro experimental design with focus. For this study, the groups were formed by: positive control group (Ciprofloxacin), Negative control group, experimental group 1 (*Clinopodium pulchellum* 50%), experimental group 2 (*Clinopodium pulchellum* 100%), for each group 4 Petri dishes containing Agar Muller Hilton. The antibacterial effect was determined by the Kirby-Bauer method. Regarding the results, the inhibition halos for the concentrations of 50%, 100%, positive control, negative control were: 13.7 ± 1.45 mm, 17.0 ± 1.38 mm, 32.6 ± 1.4 and 6.0 ± 0.0 , respectively, subjected to the ANOVA test. When comparing the T student test, the *Clinopodium pulchellum* extract at 100% shows a superior effect to the hydroalcoholic extract of *Clinopodium pulchellum* at 50%. , both concentrations were lower compared to ciprofloxacin, so it is possible to infer that the results obtained in this study are in agreement with what was found in other species of the same family, which They also possess antibacterial activity.

Keywords: Antibacterial effect, *Clinopodium pulcellum*, extract, *Escherichia coli*, Hydroalcoholic, in vitro.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO Y/O DEDICATORIA.....	iv
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
III. HIPÓTESIS.....	19
IV. METODOLOGÍA	20
4.1 Diseño de la investigación.....	20
4.2 Población y muestra	21
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores... ..	21
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	23
4.5 Plan de análisis	25
4.6 Matriz de consistencia... ..	26
4.7 Principios éticos... ..	27
V. RESULTADOS.....	29
5.1 Resultados.....	29
5.2. Análisis de resultado	30
VI. CONCLUSIONES	33
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS.....	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
ANEXOS.....	40

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Evaluación antibacteriano in vitro a las concentraciones de 50% y 100% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara), control negativo y control positivo sobre sobre *Escherichia coli*, expresados en mm de diámetro de inhibición... 28

Tabla 2: Evaluación antibacteriano in vitro a las concentraciones de 50% y 100% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara), control positivo sobre sobre *Escherichia coli*29

I. INTRODUCCIÓN

La aparición y propagación de la resistencia a los antibióticos, así como la evolución de nuevas cepas de agentes causantes de enfermedades, son motivo de gran preocupación para la comunidad sanitaria mundial. El tratamiento eficaz de una enfermedad implica el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos o alguna fuente potencial de nuevos fármacos. Las plantas medicinales de uso común en nuestra comunidad podrían ser una excelente fuente de medicamentos para combatir este problema. Este estudio se centra en explorar las propiedades antimicrobianas de las plantas que se usan comúnmente como medicinas tradicionales.⁽¹⁾

Los agentes antimicrobianos son esencialmente importantes para reducir la carga mundial de enfermedades infecciosas, sin embargo, la aparición y diseminación de cepas resistentes a múltiples fármacos (MDR) en bacterias patógenas se han convertido en una amenaza importante para la salud pública, ya que hay menos agentes antimicrobianos efectivos disponibles para la infección causada por bacterias patógenas, o incluso a veces ninguno. por lo tanto, a la luz de la evidencia de la rápida propagación mundial de aislados clínicos resistentes, la necesidad de encontrar nuevos agentes antimicrobianos es de suma importancia. Sin embargo, el historial de aparición rápida y generalizada de resistencia a los agentes antimicrobianos recién introducidos indica que incluso las nuevas familias de agentes antimicrobianos tendrán una esperanza de vida corta⁽²⁾.

Un gran número de plantas medicinales han sido reconocidas como recursos valiosos de compuestos antimicrobianos naturales como una alternativa que puede ser potencialmente efectiva en el tratamiento de estas infecciones bacterianas

problemáticas, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las plantas medicinales serían la mejor fuente para obtener una variedad de medicamentos ⁽³⁾.

Se puede decir que son principios directos de agentes terapéuticos, se emplean como ingrediente principal para la obtención de medicamentos semisintéticos más completos, la estructura de sus propiedades químicas puede servir como prototipo para la preparación de fármacos sintéticos y estas sustancias se pueden emplear como señaladores taxonómicos en el seguimiento de nuevos medicamentos ⁽²⁾.

Se han utilizado muchas plantas debido a sus características antimicrobianas, que se deben a los fitoquímicos sintetizados en el metabolismo secundario de la planta [8 , 9]. Las plantas son ricas en una amplia variedad de metabolitos secundarios como taninos, alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides, que se ha encontrado in vitro que tienen propiedades antimicrobianas ⁽⁴⁾.

Las plantas que son de uso terapéutico contienen metabolitos, que son los responsables de dicho efecto, pero también son los responsables de diferentes intoxicaciones o reacciones adversas cuando son utilizadas de una manera inadecuada, utilizando una dosis elevada o haciendo su uso de manera prolongada ⁽⁵⁾.

Hoy en día, la razón de varias consultas médicas, es algún efecto no deseado que es debido al mal uso de las plantas medicinales, desconociéndose incluso que las mismas sean las causantes de cualquier efecto indeseado. Esto se debe a la falta de información que existe en las personas acerca de los riesgos y beneficios que pueden presentar el uso de las plantas medicinales, siendo una causa principal para que la población se automedicación con ellas, pensando que son inofensivas y más seguras tan solo por ser naturales ⁽⁶⁾.

En los últimos años han aumentado las infecciones por la bacteria *Escherichia coli* que es la procreadora de la toxina Shiga (Stec) y que han habido millares de acontecimientos ocasionales de colitis hemorrágica (diarrea sanguinolenta), algunos de los cuales provocan una infección como por ejemplo el síndrome urémico hemolítico que puede ser perjudicial para una persona que padezca esta infección. Estas toxinas (Stec) han causado un gran impacto en los sistemas de atención sanitaria, y en el negocio agropecuario en diversas partes del mundo ⁽⁶⁾.

Escherichia coli viene a ser una bacteria que se encuentra mayormente en el tracto gastrointestinal en las personas como también en los animales. Debido a su incremento en el tracto gastrointestinal y también en las heces, la *Escherichia coli* es utilizado como el indicativo primordial de una intoxicación fecal en la aparición de la inocuidad de las comidas y el agua ⁽⁷⁾.

La mayor cantidad de bacterias de *E. coli* son cuerpos inofensivos seguros cuando se encuentran en su ámbito intestinal natural. Diferentes cepas de *Escherichia coli*, patógenos gastrointestinales son patógenos gastrointestinales graves para las personas, y algunas todavía son patógenos para animales jóvenes que son destinados a la elaboración de alimentos. La *E. coli* que causan enfermedades se diferencian de otras *E. coli* por su amplitud de causar patologías a través de mecanismos genéticamente prudentes, como la elaboración de toxinas, la unión e irrupción de células hospedadores, la interferencia con el metabolismo celular y la devastación de tejidos. Se puede estar expuesto a la *Escherichia coli* proveniente del agua o de los alimentos contaminados, sobre todo de los vegetales crudos y de la carne de res molida poco cocinada ⁽⁸⁾.

Algunas cepas de E. coli viven de forma habitual en el tracto digestivo de las personas sanas. Sin embargo, algunas cepas de E. coli han adquirido genes que les permiten causar infecciones en el sistema digestivo y en otras partes del organismo, más frecuentemente en el sistema urinario. E. coli es la causa más frecuente de infección de vejiga en las mujeres ⁽⁷⁾.

Estas bacterias también causan infección de la próstata (prostatitis), infección de la vesícula biliar, infecciones que se desarrollan después de la apendicitis y la diverticulitis, infecciones de heridas (incluyendo las producidas por la cirugía), infecciones en úlceras por presión, infecciones del pie en personas con diabetes, neumonía, meningitis en los recién nacidos e infecciones del torrente sanguíneo. En personas debilitadas, residentes en centros sanitarios, o que hayan tomado antibióticos se desarrollan muchas infecciones de E. coli que afectan zonas externas al sistema digestivo ⁽⁹⁾.

Estas bacterias también pueden causar infecciones fuera del intestino si este está desgarrado (perforado) o dañado, por ejemplo, por una lesión o una enfermedad, como la enfermedad inflamatoria del intestino. En ese caso, las bacterias pueden abandonar el intestino y extenderse a las estructuras cercanas, que no tienen defensas contra ellas, o pueden entrar en el torrente sanguíneo. ⁽¹⁰⁾

Una cepa produce una toxina que causa una diarrea acuosa de corta duración. Este trastorno (conocido como diarrea del viajero) suele darse en personas que han consumido comida o agua contaminadas en zonas donde el agua no está adecuadamente depurada. ⁽⁶⁾

La resistencia bacteriana es un problema antiguo que se presenta hasta la actualidad, en cuanto a la cifra de recientes moléculas de antibióticos presentes en el mercado, la

aparición de gérmenes multirresistentes es cada vez más común. La bacteria *E. coli* es el microbio más frecuentemente que conlleva a bacteriemias nosocomiales y comunitarias, y el sitio de familias generadoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) se sitúa alrededor del 10% ⁽⁹⁾.

Existen distintas familias de *E. coli* que se pueden dar en enfermedades humanas y que presentan una infección perceptible. Se distinguen como agentes responsables de gastroenteritis en niños, especialmente en regiones o países del tercer mundo, es el causante de mortalidad de cerca de un millón de niños cada año debido a deshidratación y a otras complejidades. Esta cantidad de patógenos que incluye a *E. coli* O157:h7 que en USA conlleva a cerca de 20.000 casos de indigestión sanguinolenta y más de 200 mortalidades al año, debido a insuficiencia renal que ocurre especialmente en niños pequeños y ancianos ⁽¹¹⁾.

Los principales patógenos que se encuentran en el intestino, que se describen en función de los indicios clínicos que generan y de los causantes de patogenicidad que se expresan son los subsiguientes: *E. coli* enterotoxigénicas (Etec), *E. coli* enteropatógenas (Epec), *E. coli* enteroagregativas (Eaggec), *E. coli* enterohemorrágicas (Ehec) y *E. coli* enteroinvasivas (Eiec) ⁽¹²⁾.

Por lo expuesto anteriormente en la realidad problemática se plantea la siguiente interrogante:

¿El extracto hidroalcohólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* "Panisara" tendrá efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli*?

Objetivo General

- Evaluar in vitro el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* "Panisara" sobre *Escherichia coli*.

Objetivos Específicos

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (panisara) a concentraciones de 50% y 100% sobre *Escherichia coli*.
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (panisara) frente a Ciprofloxacino.

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes:

Chacón C, en el año 2020 en Arequipa realizó el estudio “sobre el efecto antimicrobiano de *Satureja pulchella* (panisara)” cuyo objetivo fue investigar la actividad antibacteriana de aceites esenciales y extractos de plantas endémicas como *Satureja pulchella* (Panisara) Los resultados indican que presenta efecto antimicrobiano. El aceite esencial de hojas presenta frente a *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Cándida albicans*. El extracto etanólico frente a *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus aureus* (SARM), finalmente; el extracto hidroalcohólico frente a *Salmonella enterica typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Staphylococcus epidermidis*. El efecto antimicrobiano podría deberse a su composición química. El aceite esencial presenta

compuestos fenólicos, 1.3.3-trimetil-2-etenil ciclohexeno, (46.84%), alfa-pineno (8.32%), betafelandreno (8.27%) y el beta-mirceno (6.96%). El extracto compuesto por alcaloides, flavonoides y compuestos fenólicos, quinonas y glicósidos. En cuanto a la capacidad antioxidante el aceite esencial muestra como resultados 2288.31 $\mu\text{g/mL}$ (DPPH), 30.87 $\mu\text{g/mL}$ (ABTS) y para el extracto 400.97 ± 10.70 mg ET/g (DPPH) ⁽¹³⁾.

Emre et al., en el año 2020, en Turquía presentaron su investigación sobre “composiciones químicas, capacidades de eliminación de radicales y actividades antimicrobianas en semillas de *Satureja hortensis* L. y *Mentha spicata* L. subsp. *Spicata*” de Turquía; El presente estudio determinó algunos compuestos biológicos, actividad secuestrante de radicales y capacidad antimicrobiana en semillas de *Satureja hortensis* L. y *Mentha spicata* L. subsp. *s picata*. Se ha encontrado que el ácido alfa-linolénico (C18:3 n3) es el principal ácido graso poliinsaturado de *Satureja hortensis* L. ($66,24 \pm 1,24\%$) y *Mentha spicata* L. subsp. *picata* ($48,17 \pm 1,01\%$). El ácido linoleico (C18:2 n6) se identifica como el segundo ácido graso poliinsaturado principal en el presente estudio y el ácido oleico (C18:1 n9) se determina como el ácido graso monoinsaturado principal. El estudio actual mostró que *Satureja hortensis* L. y *Mentha spicata* L. subsp. *picata* tienen bajos niveles de ácidos grasos saturados. Se ha demostrado que en *Mentha spicata* L. subsp. *s picata*, mientras que ergosterol ($69,41 \pm 1,75$ $\mu\text{g/g}$) y beta-sitosterol ($19,81 \pm 1,14$ $\mu\text{g/g}$) se han determinado en *Satureja hortensis* L. Además, este estudio determinó que *Satureja hortensis* L. y *Mentha spicata* L. subsp. *s picata* tiene un bajo contenido de vitaminas liposolubles. Además, se ha encontrado que *Satureja hortensis* L. contiene naringenina ($612,57 \pm 2,57$ $\mu\text{g/g}$), morina ($86,97 \pm 1,12$ $\mu\text{g/g}$), quercetina ($22,87 \pm 0,75$ $\mu\text{g/g}$) y kaempferol ($20,11 \pm 0,94$

$\mu\text{g/g}$), mientras que naringenina ($135,91 \pm 1,91 \mu\text{g/g}$), naringina ($61,23 \pm 2,15 \mu\text{g/g}$) y quercetina ($47,51 \pm 1,17 \mu\text{g/g}$) se han detectado como flavonoides principales en las semillas de *Mentha spicata* L. subsp. *s. spicata*. Los presentes resultados revelaron que *Satureja hortensis* L. y *Mentha spicata* L. subsp. *s. spicata* mostró mayor actividad contra microorganismos grampositivos y gramnegativos, hongos y levaduras ⁽¹⁴⁾.

Vitanza et al., en el año 2019, en Italia plantearon el estudio del “Aceite esencial de *Satureja montana* L. y su actividad antimicrobiana solo o en combinación con gentamicina” cuyo objetivo fue obtener un perfil de metabolitos del aceite esencial comercial de *S. montana* L. (SEO) y evaluar sus propiedades antimicrobianas, tanto solas como combinadas con gentamicina, frente a cepas bacterianas Gram-negativas y Gram-positivas; identificaron metabolitos como carvacrol, cimeno y timol como los principales componentes del SEO, se observó actividad antimicrobiana e indujo una interacción sinérgica con la gentamicina contra las cepas bacterianas clínicas y de referencia. SEO indujo una reducción significativa de la formación de biopelículas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* ⁽¹⁵⁾.

Gamero et al, en el año 2019 en Lima realizaron un trabajo de investigación sobre el “efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas secas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts (panizara)” que tuvo como objetivo principal determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas secas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panizara” ,mediante el método de maceración, el análisis microbiológico mediante método Kirby Bauer con cepas de *Salmonella enterica typhimurium* ATCC 14028 y se utilizó el extracto en concentraciones preparadas de 33 %, 43 % y 50 %;se realizó un tamizaje fitoquímico para poder

determinar de forma cualitativa la presencia de metabolitos y se obtuvo como resultado la formación de halos de inhibición de las concentraciones de 33 %, 43 % y 50 % siendo el diámetro de los halos de inhibición de 22 mm, 24 mm, 28 mm respectivamente; en el tamizaje fitoquímico se identificó la presencia de taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, quinonas y azúcares. ⁽¹⁶⁾.

Cueva et al, en el año 2019 en Chimbote en su investigación sobre “Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts panizara”, se plantearon como objetivo determinar la actividad antibacteriana in vitro" del aceite esencial de las hojas *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts panizara", para lo cual se utilizó el aceite esencial y cultivos bacterianos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Se estudió la extracción del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts panizara" mediante el método de arrastre con vapor de agua. También se hicieron los análisis de algunas propiedades físico-químicas del aceite esencial. El rendimiento en aceite esencial fue de 0,24 % V/P del material fresco. Las características físicas químicas del aceite esencial son: Densidad 0,975 g/cc, Índice de refracción 1,489, muy soluble en alcohol de 96°, éter y cloroformo, Índice de acidez 0.12, Índice de acetilo 0.12. En el análisis del efecto antibacteriano, los datos encontrados fueron sometidos al análisis estadístico descriptivo, utilizando el programa SPSS, considerándose una p. ⁽¹⁷⁾.

Mohammed et al., en el año 2019, en Turquía presentaron su investigación sobre la actividad antioxidante, antimicrobiana y perfil terapéutico de *Satureja hortensis* de la provincia de Erzincan; En este estudio, se obtuvieron extractos de etanol (EtOH), metanol (MeOH) y diclorometano (DCM) de las muestras de plantas. Se determinó el estado antioxidante total (TAS), el estado oxidante total (TOS), el índice de estrés

oxidativo (OSI) y la actividad antimicrobiana de los diferentes extractos de *Satureja hortensis* L. recolectados en la provincia de Erzincan (Turquía). Los kits Rel Assay Diagnostics se utilizan para determinar los valores TAS, TOS y OSI. La actividad antimicrobiana se determinó con 9 cepas diferentes de bacterias y hongos (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* MRSA, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Candida krusei* y *Candida glabrata*) utilizando el método de dilución en agar modificado. Los extractos de plantas en este estudio fueron antimicrobianos efectivos entre 25-800 µg/mL de nivel de concentración en 9 cepas de microorganismos diferentes. También los extractos de plantas mostraron la mayor actividad contra *A. baumannii*. Como resultado, la planta de *S. hortensis* de la provincia de Erzincan podría ser una buena fuente natural de antioxidantes y antimicrobianos con su alta capacidad antioxidante y baja capacidad oxidante ⁽¹⁸⁾.

Rodríguez C, en el año 2019 en Trujillo investigaron el trabajo para analizar los “compuestos fenólicos y actividad antioxidante de *Clinopodium pulchellum* (Kunt) Govaerts, procedente del distrito de Cachicadán – La Libertad, Perú”. se plantearon como objetivo determinar los compuestos fenólicos y actividad antioxidante de *Clinopodium pulchellum* (Kunt) Govaerts, procedente del distrito de Cachicadán – La Libertad, Perú. La especie se identificó en el Herbarium Truxillense (HUT), con código 59526; se prepararon seis extractos, cuatro se sonicaron (diclorometano, agua, etanol de 96% y 45%) a 40 °C por 15 min, y dos extractos acuosos (infuso y decocto) al 5% p/v y se realizó el tamizaje fitoquímico en todos los extractos se evidencia la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, triterpenos y

esteroides. Los compuestos fenólicos se cuantificaron mediante el método de Folin-Ciocalteu, cuyos valores fluctuaron entre $297,04 \pm 17,51$ mg EAG/g MSM y $8,52 \pm 1,38$ mg EAG/g MSM. Así mismo se evaluó la actividad antioxidante por el método de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), cuyos valores fluctuaron entre $400,97 \pm 10,70$ mg ET/g MSM y $189,55 \pm 2,12$ mg ET/g MSM⁽¹⁹⁾.

Mishell et al, en el año 2018 en Lima en su investigación acerca de la “actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Satureja pulchella* (Panisara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*”, se plantearon como objetivos evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Satureja pulchella* (Panisara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, reconocer los metabolitos secundarios responsables del efecto antimicrobiano. Mediante los métodos de Screening fitoquímico o Tamizaje fitoquímico y método de microdilución y el método de recuperación por contaminación directa. En los resultados los metabolitos secundarios hallados con mayor frecuencia en el extracto hidroalcohólico de la *Satureja pulchella* (Panisara), se determinó mediante el Screening fitoquímico y se comprobó de forma cualitativa; se detectaron: alcaloides, flavonoides y compuestos fenólicos⁽⁹⁾.

Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) fueron determinadas mediante observación de la concentración más baja del agente (17 concentraciones diferentes del extracto hidroalcohólico) que inhibió el crecimiento visible de la bacteria dentro de los pocillos inoculados de la microplaca. La producción bacteriana por el método de recuperación por contaminación directa, la lectura de la producción

bacteriana se estimó por el conteo de colonias en el cultivo de placas sembradas. Esto se verifica sembrando el inóculo el cual si hay una evidente reducción logarítmica significativa con respecto a la concentración inicial de la cepa de prueba ⁽⁹⁾.

La cual concluye que mediante el método de microdilución se determinó que, en las 17 concentraciones del extracto investigado, solo la concentración más alta (presentó CMI =32768 µg/mL), frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Mediante el método de recuperación por contaminación directa se evidenció que si bien a la concentración de 100 mg/mL del extracto Hidroalcohólico de las partes de la hoja y las flores de *Satureja pulchella* (Panizara), contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, hubo una disminución logarítmica de las concentraciones de niveles evaluados; dicha actividad antibacteriana si se encuentra limitada ⁽⁹⁾.

Cotrina et al , en el año 2016 en Lima realizaron la “evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial panizara (*satureja pulchella*) sobre *staphylococcus aureus*”, teniendo como objetivo determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial panizara “*Satureja pulchella*” frente a *Staphylococcus aureus*. Obteniendo como resultado que el aceite esencial de la planta Panizara “*Satureja pulchella*” presenta actividad antibacteriana significativa sobre la Cepa *Staphylococcus aureus* ATCC6538 a las concentraciones de 25%, 50%, 75% con un promedio de halos de inhibición de 14,88mm, 23.97 mm, 27.87 mm respectivamente. Se detectó compuestos fenólicos que se confirman por la coloración azul oscura con el reactivo de cloruro férrico y estos serían los principales responsables de la actividad antibacteriana ⁽¹⁰⁾.

2.2 Marco teórico

Fitoterapia

La fitoterapia es un neologismo que fue empleada Henri Leclerc, fue un médico francés (1870-1955) y es utilizada para designar el uso de las plantas medicinales con fines terapéuticos donde se puede utilizar las semillas o parte de ellas que van a servir para prevenir o curar alguna enfermedad del ser humano. ⁽²⁰⁾

Planta medicinal

Son aquellas plantas que en uno o más de sus órganos contienen propiedades terapéuticas que pueden ser aplicadas para curar enfermedades o que son indicadores para la síntesis químico –farmacéutica. ⁽²¹⁾

Droga vegetal

Se menciona que es toda plantas u órganos de las plantas, enteros o partes del mismo, o bien sus productos obtenido mediante métodos sencillos, que poseen una composición química que le dé una acción terapéutica útil y que no han sufrido otro tratamiento que el necesario para su limpieza y desecación, con el balance de que pueda conservarse correctamente. ⁽²¹⁾

Principio Activo

Es toda sustancia responsable del efecto del fármaco, que cuando sufre cambios en su estructura dentro del organismo va producir una acción terapéutica. ⁽²²⁾

Extracto vegetal

Se le denomina extracto vegetal al producto o líquido que se extrae de las plantas mediante procedimientos físicos o químicos con varios solventes para realizar diferentes preparados galénicos. ⁽²³⁾

In vitro: es un conjunto fenomenal visualizados en el laboratorio a partir de géneros biológicos vivos. Método para tener vivos varios organismos vivos como son: células, espermatozoos, óvulos, microorganismo, etc.

Infecciones bacterianas: se producen por bacterias. Estas infecciones pueden ser de dos modelos: primarias y secundarias. Las primarias tienen local sobre piel sana y pueden ser tanto de pelaje superficial o profundo (sicosis de la barbilla, impétigo, etc.). Las secundarias, por el contrario, tienen sitio en la piel lesionada (dermatitis atópica, eccematosa, picaduras de insecto contagiadas, etc.).⁽²³⁾.

Clinopodium pulchellum

La *Clinopodium pulchellum* es una planta que se desarrolla aproximadamente a más de 2500 m.s.n.m, es conocida por muchas personas como “panisara” que es propia de los andes del Perú, como también se puede encontrar en otros países como Asia y Estados Unidos

Hábitat

Es un arbusto que es propia de los andes que crece asociada con la vegetación arbustiva, crece en suelos turbosos que son ricos en material orgánico, se reproduce sencillamente por semillas como también vegetativamente⁽²⁴⁾.

Descripción botánica

Es una planta olorosa y tiene un brote delgado que se desarrolla en forma de mata y muy ramificado. Sus hojas suelen ser cortas, acorazonada y ápice agudo, dentadas, verde en la cara superior y blanca en la inferior debido a que es pubescente. Sus flores suelen ser pequeñas y labiadas, pentámeras, tiene cinco sépalos y cinco pétalos que están unidos⁽²⁴⁾.

Usos medicinales

Es efectiva para los trastornos digestivos y controla las flatulencias o gases estomacales. Se emplea para curar problemas estomacales. Asimismo, se utiliza en casos de acidez estomacal y la esencia que presenta que es muy agradable por ello los pobladores suelen utilizarlo para los resfríos, cataros, infecciones, calambres, etc. ⁽²⁴⁾.

Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios proveen un mecanismo de inactivación de las enzimas que intervienen en el metabolismo primario en el momento que sus funciones dejan de hacerse necesarias. Asimismo, los metabolitos secundarios juegan un papel muy importante dentro de la supervivencia de los seres vivos, aportando elementos de defensa, atracción, u otros compuestos que son de mucha importancia fisiológica ⁽²⁵⁾.

Tipos de metabolitos secundarios

Terpenos

Los terpenos, o terpenoides, son el grupo con mayor número de metabolitos secundarios (más de 40.000 moléculas diferentes). La ruta biosintética de estos compuestos proporciona a metabolitos primarios como secundarios que son importantes para el desarrollo y supervivencia de las plantas. Dentro de los metabolitos primarios se pueden encontrar hormonas como por ejemplo la giberelinas, ácido abscísico y citoquininas, carotenoides, clorofilas y plastoquinonas (fotosíntesis), ubiquinonas (respiración) y esteroides (de mucha importancia en las estructuras de membranas).

Son insolubles en agua y derivan todos ellos de la cohesión de unidades de isopreno (5 átomos de C). De esta manera, los terpenos se clasifican por la cantidad de unidades

de isopreno (C5) que contienen: los terpenos de 10 C contienen 2 unidades C5 y se llaman monoterpenos; los de 15 C tienen 3 unidades de isopreno y se denominan sesquiterpenos, y los de 20 C tienen cuatro unidades C5 y son los diterpenos. Los triterpenos tienen 30 C, los tetraterpenos tienen 40 C y se habla de politerpenos cuando contienen más de 8 unidades de isopreno⁽²⁶⁾.

Se sintetizan a partir de metabolitos primarios por 2 rutas: la del ácido mevalónico, activa en el citosol, en la que 3 moléculas de acetil-CoA se condensan para conformar ácido mevalónico que reacciona hasta crear isopentenil difosfato (IPP), o la ruta del metileritritol fosfato (MEP) que funciona en cloroplastos y genera lo que es IPP.

El isopentenil bifosfato y su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP) suelen ser los precursores activados en la biosíntesis de terpenos en reacciones de condensación catalizadas por prenil transferasas que da lugar a prenil bifosfatos como geranil difosfato (GPP), precursor de monoterpenos, farnesil difosfato (FPP) precursor de sesquiterpenos y geranilgeranil difosfato (GGPP) precursor de diterpenos⁽²⁶⁾.

Compuestos fenólicos

En el contexto del metabolismo, los aminoácidos aromáticos se pueden dirigir tanto al metabolismo primario como al metabolismo secundario. Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo. Desde el punto de vista de la estructura química, son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los

taninos y la lignina. En el grupo también se encuentran pigmentos flavonoides Muchos de estos productos están implicados en las interacciones planta-herbívoro ⁽²⁴⁾

Flavonoides

Su estructura carbonada contiene 15 carbonos ordenados en 2 anillos aromáticos unidos por un puente de 3 carbonos. Se clasifican de acuerdo al de oxidación del puente de 3 carbonos, siendo las principales antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles e isoflavonas. Entre sus funciones se encuentra la protección y la pigmentación ⁽²⁴⁾.

En la ruta de biosíntesis de flavonoides (Fig. 23), en el primer paso consiste en la condensación de 3 moléculas de malonil-CoA con una molécula de p-cumaril-CoA. Esta reacción está catalizada por calcona sintasa, que da lugar a naringerina calcona, precursor de los flavonoles y antocianinas. La misma condensación catalizada por la estilbeno sintasa conduce a la formación estilbenos implicados en mecanismos de protección de plantas frente a patógenos.

Alcaloides

Los alcaloides vienen a ser una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios que tienen en común 3 características: que son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, y exhiben actividad biológica. La mayor parte son heterocíclicos algunos suelen ser compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos) como la mescalina o la colchicina, por ejemplo. Se encuentran en el 20% aproximadamente de las plantas vasculares, la mayor parte dicotiledóneas herbáceas ⁽²¹⁾.

A los valores normales de pH del citosol y de la vacuola (7,2 y 5-6, respectivamente), el nitrógeno está protonado lo cual confiere el carácter básico o alcalino de estos compuestos en solución. En humanos, los alcaloides generan respuestas fisiológicas y psicológicas la mayoría de ellas producto de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos los alcaloides resultan ser tóxicos. Es por eso que, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajantes musculares, tranquilizantes, antitusivos o analgésicos⁽²¹⁾.

Taxonomía⁽²⁶⁾

Reino	: Plantae
Subreino	: Tracheobionta
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Lámiales
Familia	: Lamiaceae
Género	: Clinopodium
Especie	: Clinopodium pulchellum
Nombre común	: “Panisara”

Escherichia Coli

Escherichia coli es una bacteria Gram negativa que se describió por primera ocasión en 1885 por el pediatra teutón Theodore Escherich. Fue nombrada inicialmente como “bacteriemia coli commune”, luego en 1919 fue conocida con el renombre actual en consideración a su descubridor. Los representantes de esta clase son gérmenes

gramnegativos, oxidasa negativos, con un tamaño aproximadamente de 1,1-1,5 μm de alargado y 2,0-6,0 μm de largo ⁽¹⁹⁾.

De acuerdo a sus requerimientos de oxígeno son anaerobios libres y pueden ser móviles por la apariencia de flagelos peritricos o no removibles (Scheutz y Strockbine, 2005). ⁽²²⁾

Dentro de su taxonomía su clasificación de la *Escherichia Coli* es la siguiente:

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriace

III.HIPOTESIS Hipótesis

Alternativa H₁:

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* "Panisara" tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli*

Hipótesis Nula H₀:

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* "Panisara" no tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli*

IV. METODOLOGÍA

4.1 Diseño de la investigación

Esta investigación fue de tipo experimental, ya que se pudo manejar la variable independiente (dosis del extracto); de corte transversal pues se realizó una sola medición en el tiempo (24 horas) y de enfoque cuantitativo. La técnica que se utilizó fue la prueba de sensibilidad antimicrobiana mediante el método de disco difusión o Kirby-Bauer. La investigación estuvo formada por 4 grupos de experimentación distribuidos de la siguiente manera:

Grupo control negativo

Este grupo estuvo formado por 4 placas Petri conteniendo Agar Mueller Hinton 20ml conteniendo el cultivo de *Escherichia Coli*. Se colocaron por cada placa 4 discos de papel Whattman N° 41 con un diámetro de 6 mm sobre estos discos se colocaron un solvente de disolución (solución salina).

Grupo control estándar

Este grupo estuvo formado por 4 placas Petri conteniendo Agar Mueller Hinton 20ml conteniendo el cultivo de *Escherichia Coli*. Se colocaron por cada placa 4 discos de Ciprofloxacino 30ug con un diámetro de 6 mm.

Grupo experimental 1 al 50% (P/V) del E.H. de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara)

Este grupo estuvo formado por 4 placas Petri conteniendo Agar Mueller Hinton 20ml conteniendo el cultivo de *Escherichia Coli*. Se colocaron por cada placa 4 discos de papel Whattman N° 41 con un diámetro de 6 mm sobre estos discos se colocaron un solvente de disolución (solución salina). Sobre estos discos se colocó 20 µl de una solución del extracto de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) al 50%.

Grupo experimental 2 al (100%) (P/V) del E.H. de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara)

Este grupo estuvo formado por 4 placas Petri conteniendo Agar Mueller Hinton 20ml conteniendo el cultivo de *Escherichia Coli*. Se colocaron por cada placa 4 discos de papel Whattman N° 41 con un diámetro de 6 mm sobre estos discos se colocaron un solvente de disolución (solución salina). Sobre estos discos se colocó 20 µl de una solución del extracto de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) al 100%.

4.2 Población y Muestra

Población Vegetal

Estuvo formada por las especies vegetales *Clinopodium pulchellum* (Panisara) que crecen en la provincia de Otuzco, Departamento de la Libertad, ubicado a 2641 m s. n. m. con lo cual se realizó la extracto para realizar esta investigación.

Muestra vegetal

Estuvo formada por las hojas recolectadas de las especies vegetales *Clinopodium pulchellum* (Panisara) procedentes de la provincia de Otuzco, Departamento de la Libertad.

Criterios de inclusión

- Hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) frescas y grandes
- Hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) que estuvieron sanas y completas

Criterios de exclusión

- Hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) en mal estado, incompletas o que presenten un color negro marchito.
- Hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) que hayan tenido contacto con algún plagicida o que hayan sido atacados por plagas.

4.3 Definición y operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
Variable Independiente: Extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> (Panisara)	Producto obtenido a partir de plantas o parte de ellas obtenidos por la técnica de maceración y con diversas combinaciones de solventes.	Se utilizó 2 concentraciones del extracto Hidroalcohólico de hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> (Panisara)	Grupo experimental 1: E.H. de las hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> (panisara) 50% Grupo experimental 2: E.H. de las hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> (panisara) 100%	Cualitativa nominal
Variable Dependiente: Efecto antibacteriano del extracto de <i>Clinopodium pulchellum</i> (panisara)	sustancia cuyas propiedades son capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación	Se determinó mediante la medición de halos de inhibición.	Diámetros de los halos de inhibición (mm)	Cuantitativa de razón

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Secado y molienda de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (panisara)

Las hojas de *Clinopodium pulchellum* (panisara) fueron seleccionadas, lavadas y desinfectadas, luego se secaron a temperatura ambiente durante 4 días, Luego se llevaron a estufa a una temperatura no mayor de 40 ° C. Después las hojas fueron pulverizadas con mortero y pilón, luego se tamizaron para uniformizar el tamaño de partícula.

Obtención del extracto seco de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (panisara) por el Método de Maceración.

Se pesaron 700 g de polvo fino de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (panisara) luego se colocó en un recipiente de vidrio color ámbar con capacidad apropiada, agregándole alcohol etílico de 96° al frasco hasta cubrir las hojas pulverizadas, dejando macerar por 7 días y con una agitación de 3 veces al día.

Ejecución del ensayo

Para esta investigación todos los materiales a utilizar deben estar en buenas condiciones ya que el buen funcionamiento de los mismos nos va a permitir realizar un trabajo satisfactorio. Se procedió a esterilizar todos los materiales que se iban a utilizar mediante la técnica del calor seco y para residuos biológicos se usó autoclave.

Preparación del Agar Mueller Hinton

Se procedió a utilizar 5 frascos de 100 ml cada uno contenía Agar Mueller Hinton sólido, posteriormente se procedió a disolver 100 ml de Agar Mueller Hinton a baño maría para poder obtener al Agar líquido, así mismo se agregó 20 ml del medio de cultivo en todas las placas Petri quedando el grosor de 4mm

Ensayo de la actividad antibacteriana por el método de difusión de Kirby Bauer.

Este método se fundamenta en la difusión de un antibiótico o extracto a través de Agar semisólido, en una extensión tal que, el crecimiento del microorganismo sensible es inhibido alrededor de la zona que contiene una concentración a dosis del extracto de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (panisara).

Medición de los Diámetros de Inhibición del Crecimiento Bacteriano

Pasado el tiempo de incubación (24 horas) se realizó la medición de los diámetros de los halos o “zonas” de inhibición de crecimiento de *Escherichia Coli* utilizando un venier manual, obtenidos para cada concentración del extracto seco de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (panisara). Los resultados fueron expresados en diámetro (mm) del halo de inhibición.

4.5 Plan de análisis

Los resultados obtenidos fueron tabulados en el programa MS Excel y luego se utilizó el paquete estadístico SPSS v 20.0. para el cálculo de la prueba de hipótesis ANOVA (análisis de varianza) para la aceptación de la hipótesis de trabajo y la prueba T-student, para obtener el nivel de significancia entre dos grupos comparados (grupo estándar de referencia y grupo experimental). El análisis estadístico se realizó con un 95% de confianza ($\alpha \leq 0.05$) y un error del 5%

4.6 Matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	Variables	Indicadores	Escala de medición	Plan de análisis
Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> "Panisara" sobre <i>Escherichia coli</i>	¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> (panisara) sobre <i>Escherichia coli</i> ?	<p>Objetivo General:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar in vitro del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> "Panisara" sobre <i>Escherichia coli</i>. <p>Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> (panisara) a concentraciones de 50% y 100% sobre <i>Escherichia coli</i>. • Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> (panisara) frente a un estándar conocido (Ciprofloxacino). 	<p>Hipótesis Alternativa (H1): El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> "Panisara" tiene efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Escherichia coli</i></p> <p>Hipótesis Nula (H0): El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Clinopodium pulchellum</i> (panisara) no tiene efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia coli</i></p>	<p>Tipo: experimental, de corte transversal, de nivel explicativo y enfoque cuantitativo</p>	<p>Variable independiente</p> <p>Extracto hidroalcohólico de <i>Clinopodium pulchellum</i> (panisara)</p> <p>Variable dependiente Efecto antibacteriano</p>	<p>Extracto hidroalcohólico de <i>Clinopodium pulchellum</i> (panisara) al 50% y 100% p/v</p> <p>Diámetros de los halos de inhibición milímetro (mm)</p>	<p>Variable cualitativa nominal</p> <p>Variable cuantitativa de razón</p>	<p>Prueba estadística ANOVA y T-Student</p>

4.7 Principios éticos

Para la elaboración de este trabajo de investigación, se tomaron en cuenta los principios éticos que rigen la actividad investigadora de la Universidad Católica Los Ángeles Chimbote v. 4.00, que establecen lo siguiente:

Cuidado del medio ambiente y la biodiversidad. Se deben respetar el cuidado del medio ambiente incluido las plantas, por encima de los fines científicos; para ello, deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y maximizar los beneficios.

Justicia: El investigador debe tener mucho criterio razonable al momento de realizar estas prácticas para tomar las precauciones para que sus limitaciones de sus capacidades y conocimientos no produzcan practicas injustas. A si mismo está obligado a tratar de igual forma a quienes integren en los procedimientos, y servicios asociados en la investigación.

Integridad Científica: La integridad o rectitud deben regir no sólo la actividad científica de un investigador, sino que debe extenderse a sus actividades de enseñanza y a su ejercicio profesional. La integridad del investigador resulta especialmente relevante cuando, en función de las normas deontológicas de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación. Asimismo, deberá mantenerse la integridad científica al declarar los conflictos de interés que pudieran afectar el curso de un estudio o la comunicación de sus resultados.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1: Promedio de los halos de inhibición generado por el extracto hidroalcohólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) frente a cultivos de *Escherichia coli*.

GRUPOS	Zona de Inhibición (en mm.) X ± DS	Significancia (Valor p)
Blanco (Solución Salina Fisiológica)	6.0±0.0	
Estándar (Ciprofloxacino 5ug/disco)	32.6 ± 1.4	0.000*
E.H. <i>Clinopodium pulchellum</i> al 50%	13.70 ± 1.45	
E.H. <i>Clinopodium pulchellum</i> al 100%	17.02 ± 1.38	

*Prueba de análisis de varianza ANOVA valor $p < 0.05$.

Leyenda:

X : promedio

D.S. : desviación estándar

E.H. : Extracto hidroalcohólico

Tabla 2: Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) frente a cultivos de *Escherichia coli*.

Grupos	Tamaño de la zona de inhibición en mm. de los 2 grupos comparados		Significancia (Valor p)
	X ± DS		
E.H. <i>Clinopodium pulchellum</i> al 50% vs Estándar (Ciprofloxacino 5ug/disco)	13.70 ± 1.45	32.6 ± 1.4	0.000*
E.H. <i>Clinopodium pulchellum</i> al 100% vs Estándar (Ciprofloxacino 5ug/disco)	17.02 ± 1.38	32.6 ± 1.4	0.000*
E.H. <i>Clinopodium pulchellum</i> al 50% vs vs E.H. <i>Clinopodium pulchellum</i> al 100%	13.70 ± 1.45	17.02 ± 1.38	0.000*

*Prueba T-student para comparación de medias $p < 0.05$

Leyenda:

X : promedio

D.S. : desviación estándar

E.H. : Extracto hidroalcohólico

5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

En este trabajo de investigación in vitro se tuvo como propósito la evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Panisara) frente a cultivos de *Escherichia coli*. Mismos resultados que fueron sometidos a las pruebas estadísticas ANOVA y T-Student.

En la **Tabla 01** se presentan los promedios y la desviación estándar por cada uno de los grupos de estudio, así como la significancia respectiva, calculada con la prueba estadística ANOVA, se obtuvo una significancia de 0.000 ($p < 0.05$) es decir existe diferencia estadísticamente significativa entre la zona de inhibición en milímetros de los grupos de estudio formados por un grupo control con solución salina, el estándar farmacológico ciprofloxacino, y los extractos hidroalcohólicos de *Clinopodium pulchellum* al 100% (panisara) al 50% y 100%. Se acepta la hipótesis alternativa es decir el extracto hidroalcohólico presentó efecto antibacteriano frente a *E. coli*.

En el grupo blanco se usó como control de calidad del solvente para la dilución del extracto, que para este estudio fue Solución salina fisiológica (Cloruro de Sodio al 0.9%) en este grupo se confirma que no hubo inhibición en el crecimiento bacteriano por parte del solvente de dilución, por lo que la medida de los halos (6mm) corresponden al diámetro de los discos usados; este grupo cumple la función de control de calidad microbiológico de los materiales usados, del medio de cultivo (agar), y del solvente de dilución ⁽²⁷⁾.

Con respecto al grupo Estándar farmacológico (ciprofloxacino 5ug) los halos tuvieron una inhibición de 32.6 ± 1.4 mm de diámetro; este valor se encuentra

dentro de lo esperado según el reporte del Instituto Nacional de Salud que señala que Ciprofloxacino frente a *E. coli* tiene halos de inhibición entre 30 mm y 40 mm de diámetro ⁽²⁸⁾

Ciprofloxacino es un agente antibiótico de la clase de las fluoroquinolonas que se usa para tratar infecciones bacterianas como infecciones del tracto urinario y neumonía. La ciprofloxacina está aprobada por la FDA para el tratamiento de infecciones del tracto urinario, infecciones de transmisión sexual (gonorrea y chancroide), infecciones de la piel, huesos, articulaciones, prostatitis, fiebre tifoidea, infecciones gastrointestinales, infecciones del tracto respiratorio inferior, ántrax, peste y salmonelosis ⁽²⁸⁾.

Ciprofloxacino actúa sobre la topoisomerasa II bacteriana (ADN girasa) y la topoisomerasa IV, la focalización de ciprofloxacino en las subunidades alfa de la ADN girasa evita que super enrolle el ADN bacteriano, lo que impide la replicación del ADN, muchos mecanismos moleculares documentados sobre la resistencia a ciprofloxacino están asociados justamente con la ADN girasa, la ADN topoisomerasa y la bomba de expulsión ⁽²⁹⁾.

Los resultados encontrados son concordantes con lo reportado por Chacón et al., quienes encuentran que la alta concentración de aceites esenciales en las hojas de Panisara podrían ser las responsables de la actividad antibacteriana especialmente frente a bacterias Gram (-) como *E. coli* siendo responsables de esta actividad los metabolitos terpenoides, 1.3.3-trimetil-2-etenil ciclohexeno, (46.84%), alfa-pineno (8.32%), betafelandreno (8.27%) y el beta-mirceno (6.96%) ⁽¹³⁾.

Por otro lado Emre et al también reporta la presencia de metabolitos con capacidad antimicrobiana, atribuyendo esta actividad a la capacidad antioxidante de ciertas compuestos químicos como naringenina, morina, quercetina y kaempferol ⁽¹⁴⁾.

En la **Tabla 02** se presenta los promedios comparados entre grupos y sus significancias respectivas, se utilizó la prueba T–Student para comparación de muestras independientes, los valores mostraron para todos los casos, una significancia valor $p < 0.05$, es decir en todas las comparaciones presentadas se encontraron diferencias estadísticamente significativas, en las comparaciones del fármaco estándar Ciprofloxacino con el extracto de *Clinopodium pulchellum* al 50% y 100%, ciprofloxacino ha mostrado actividad antibacteriana significativamente mayor.

Entre los grupos experimentales el extracto hidroalcohólico de *Clinopodium pulchellum* al 100% mostró la zona más grande de inhibición bacteriana que la concentración al 50%, aunque ambos extractos se encontraron dentro del rango de inhibición necesario para ocasionar la sensibilidad del cultivo bacteriano. Como lo presenta Chacón M., en su estudio *S pulchella* presenta actividad antimicrobiana contra varias cocos gram (-) como E. Coli, este efecto antimicrobiano se relaciona con la composición química del extracto, ya que éste presenta compuestos fenólicos, terpenos, alcaloides, glicósidos, flavonoides y quinonas. Entre los metabolitos identificados se encuentran alfa-pineno, beta-felandreno, 1.3.3-trimetil-2-etenil ciclohexeno y beta-mirceno ⁽³⁰⁾.

Los terpenos, se derivan de la vía isoprenoide y se producen y secretan a partir de tejidos vegetales especializados, están compuestos por unidades de isopreno (C5), que es la base para su clasificación, es decir, dos unidades de isopreno forman

monoterpenos (C10), tres unidades forman sesquiterpenos (C15), cuatro unidades forman diterpenos (C20), seis unidades forman triterpenos (C30) y ocho unidades forman carotenoides (C40). Los principales metabolitos reportados para el género *Satureja* fueron componentes volátiles como carvacrol, timol y éter metílico de carvacrol ⁽³¹⁾.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Clinopodium pulchellum* (panisara) frente a *Escherichia coli* obteniéndose halos de inhibición de 13.70 ± 1.45 mm de diámetro para *C. pulchellum* al 50% p/v y 17.02 ± 1.38 para *C. pulchellum* al 100% p/v.
- La comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Clinopodium pulchellum* (panisara) al 50% y 100% frente a *Escherichia coli*. mostraron mejores resultados cuanto más alta fue la dosis ($p=0.000$) sin embargo utilizando un fármaco de referencia (Ciprofloxacino) los extractos no tuvieron una respuesta significativamente comparada con el fármaco, siendo Ciprofloxacino quien presenta los resultados más altos tanto para extracto hidroalcohólico de *Clinopodium pulchellum* (panisara) al 50% y 100% ($p=0.000$ para ambas comparaciones).

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Para futuras investigaciones se tiene que tener en cuenta la temporada de la planta, que sus hojas estén en buen estado para una buena extracción y así mismo una buena identificación taxonómica.
- Se debe tener en cuenta los permisos de los laboratorios y de los instrumentos con anticipación para que no haya ningún impedimento al momento de hacer la ejecución de la investigación.
- Se recomienda realizar más investigaciones de la misma familia para determinar el efecto antibacteriano y se pueda realizar comparaciones con nuevos fármacos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. María Magdalena del Campo. Pervivencia de los remedios vegetales tradicionales americanos en la terapéutica española actual. Universidad Complutense de Madrid. [Tesis]. Madrid 2014. [citado el 01 de Marzo, 2022]. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/24963/1/T35261.pdf>
2. Cruz Hernández David, López Silva Vanessa Nataly. Plantas medicinales, Seminario Final Silva Nataly. [citado el 10 de Abril, 2022]. Disponible en: http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/ifig/Plantas_medicinales_Seminario_Final_Silva_Nataly.pdf.
3. Pozo Esparza, Gladys María. Uso de las plantas medicinales en la comunidad del Cantón Yacuambi durante el periodo Julio-Diciembre 2011. Universidad Técnica Particular de Loja. [Tesis]. Ecuador 2014. [citado el 14 de Mayo, 2022]. Disponible en: http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6523/3/Pozo_Esparza_Gladys_Maria.pdf
4. Jean Michel (FAO), Patrick (FAO), Peter (FAO), Marisa Caipo (FAO), Patricia (FAO), Arellano Susana (FAO). Escherichia coli. Empres [Internet].2015. [citado el 24 de marzo, 2022]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i2530s/i2530s03.pdf>
5. Larry M. Bush, MD, FACP, Charles E. Infecciones por Escherichia coli. Manual MSD 2015. [citado el 24 de marzo, 2022]. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es-pe/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas/infecciones-por-escherichia-coli>.
6. José Molina López. Escherichia Coli Diarrogénica. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).2015. [citado el 20 de Abril, 2022]. Disponible

en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>

7. Ana M^a García-Hernández, Elisa García-Vázquez, Alicia Hernández-Torres, Joaquín Ruiz², Genoveva Yagüe, José Antonio Herrero, Joaquín Gómez. Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. *Rev Esp Quimioter* [Internet].2011. [citado el 15 de Mayo, 2022]. Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/24/2/garcia.pdf>.
8. Juan José Canet. *Escherichia coli*: Características, Patogenicidad y Prevención (I). *betelgeux*.2016. [[citado el 24 de Mayo, 2022]. Disponible en: <http://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevención-i/>
9. Mishel Roció, Catherin Ruiz. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Satureja pulchella* (Panisara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. [Tesis]. Perú 2017. [citado el 01 de Junio, 2022]. Disponible en: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2007/TESIS_MISHEL%20ROCIO_Y_CATHERIN%20RUIZ.pdf?sequence=3&isAllowed=y
10. Cotrina Jorge, Franco Joel. Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial *Panzara (Satureja Pulchella)* sobre *staphylococcus Aureus*. Universidad Alas Peruanas [Tesis]. Perú 2016. [citado el 10 de Junio, 2022]. Disponible en: http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/2738/2/COTRINA_JORGE-Resumen.pdf.

11. Manandhar, S., Luitel, S., & Dahal, R. K. (2019). In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *Journal of tropical medicine*, 2019. [citado el 12 de Junio, 2022]. Disponible en:
<https://www.hindawi.com/journals/jtm/2019/1895340/>
12. Olascuaga-Castillo, K., Rubio-Guevara, S., Valdiviezo-Campos, J. E., & Blanco-Olano, C. (2020). *Desmodium molliculum* (Kunth) DC (Fabaceae); Perfil etnobotánico, fitoquímico y farmacológico de una planta andina peruana. *Ethnobotany Research and Applications*, 19, 1-13. [citado el 17 de Junio, 2022].
En:
<https://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/1811>
13. Chacón Chipana, M. (2020). Estudios sobre el efecto antimicrobiano de *Satureja pulchella* (panisara). [citado el 01 de Julio, 2022]. Disponible en:
<http://780f079f719c.sn.mynetname.net/bitstream/handle/UPADS/148/CHACON%20CHIPANA%20MADELEYNE%20-%20bach..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
14. Emre, İ., Kurşat, M., Yılmaz, Ö., & Erecevit, P. (2020). Chemical compositions, radical scavenging capacities and antimicrobial activities in seeds of *Satureja hortensis* L. and *Mentha spicata* L. subsp. *spicata* from Turkey. *Brazilian Journal of Biology*, 81, 144-153. [citado el 02 de Julio, 2022]. Disponible en:
<https://www.scielo.br/j/bjb/a/wVvvLQdBQTXPQCbRqtHjyWL/?format=html>
15. Vitanza, L., Maccelli, A., Marazzato, M., Scazzocchio, F., Comanducci, A., Fornarini, S., ... & Longhi, C. (2019). *Satureja montana* L. essential oil and its antimicrobial activity alone or in combination with gentamicin. *Microbial Pathogenesis*, 126, 323-331. [citado el 03 de Julio, 2022]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401018308891#!>

16. Gamero Polleri, Martínez Alcalá. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panizara” en cepas de *Salmonella entérica typhimurium* in vitro. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. [Tesis]. Perú 2019. [citado el 04 de Julio, 2022]. Disponible en:
[http://168.121.45.184/bitstream/handle/20.500.11818/4537/TESIS_GAMERO_MART%
c3%8dNEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://168.121.45.184/bitstream/handle/20.500.11818/4537/TESIS_GAMERO_MART%c3%8dNEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
17. Cueva Julca Elvis Alex. Actividad Antibacteriana in vitro del Aceite Esencial de las Hojas *Clinopodium Pulchellum* (Kunth) Govaerts "Panizara". Universidad San Pedro. [Tesis]. Chimbote 2017. [citado el 04 de Julio, 2022]. Disponible en:
http://www.repositorio.usanpedro.edu.pe/bitstream/handle/USANPEDRO/765/Tesis_54495.pdf?sequence=1&isAllowed=y
18. Mohammed, F. S., DAŞTAN, T., Sevindik, M., & SELAMOĞLU, Z. (2019). Antioxidant, antimicrobial activity and therapeutic profile of *Satureja hortensis* from Erzincan Province. *Cumhuriyet Medical Journal*, 41(3), 558-562. [citado el 04 de Julio, 2022]. Disponible en:
<http://cmj.cumhuriyet.edu.tr/en/pub/cmj/article/569426>
19. Rodríguez Cecilia, Suarez Cecilia. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de *Clinopodium pulchellum* (Kunt) Govaerts, procedente del distrito de Cachicadán – La Libertad, Perú. Universidad Nacional de Trujillo. [Tesis]. Trujillo 2019. [citado el 04 de Julio, 2022]. Disponible en:
[http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/13192/Rodriguez%20Mu
c3%b1oz%20Cecilia%20Anataly.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/13192/Rodriguez%20Mu%
c3%b1oz%20Cecilia%20Anataly.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

20. Morales M, González E, Morales J. Fitoterapia, medicamentos herbales y automedicación. Plantas medicinales y medicina natural. [Libro electrónico]. Chile: Editorial Ocho Libros; 2014 [citado el 04 de Julio, 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/281747503_Fitoterapia_medicamentos_herbales_y_automedicacion
21. Salvador Cañigual. Eduardo Dellacassa & Arnaldo L. Bandoni. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? ISSN [internet].2003. [citado el 04 de Julio, 2022]. 1-8. disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pf
22. MSc. Beatriz Romeu Alvarez. Caracterización de cepas de Escherichia Coli de Importancia Clínica Humana aisladas de Ecosistemas dulceacuícolas de la habana. [Tesis doctoral].Habana. Universidad de la Habana Facultad de Biología Departamento de Microbiología y Virología.2012. [citado 16 Jun 2022] disponible en: http://tesis.repo.sld.cu/625/1/Beatriz_Romeu_Alvarez.pdf
23. Plantas Medicinales de Áncash. Panisara. Instituto Superior de Educación Publico Huaraz. [citado el 24 de Junio, 2022].. Disponible en : <http://pmedicinal.webcindario.com/eve/panisara.html>
24. Juan Antonio Galbis Pérez. Panorama actual de la química farmacéutica.2014. [Libro electrónico]. pag 206. [citado el 8 de Jun, 2022]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=xPlmnSeN9ZYC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q=metabolitos%20secundarios&f=false
25. Adolfo Ávalos García. Elena Pérez-Urria Carril. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. [citado el 15 de Mayo, 2022].

- Disponible en:
http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
26. Herrera, M. L. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 34, 33-41. Disponible en:
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1017-85461999000100010&script=sci_arttext
27. Sacsquispe Contreras, R., & Velásquez Pomar, J. (2008). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Disponible en:
https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD_PUBLICA/NOR_TEC/30.pdf
28. Thai T, Salisbury BH, Zito PM. Ciprofloxacin. [Updated 2021 Nov 15]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535454/#>
29. Li, W., Zhang, S., Wang, X., Yu, J., Li, Z., Lin, W., & Lin, X. (2018). Systematically integrated metabolomic-proteomic studies of *Escherichia coli* under ciprofloxacin stress. *Journal of Proteomics*, 179, 61-70. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874391918300952>
30. Chacon Chipana, M. (2020). Estudios sobre el efecto antimicrobiano de *Satureja pulchella* (panisara). Disponible en:
<http://bolsa-trabajo.upads.edu.pe/handle/UPADS/148>
31. Serrano, C., Matos, O., Teixeira, B., Ramos, C., Neng, N., Nogueira, J., ... & Marques, A. (2011). Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja montana* L.

extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(9), 1554-1560.

Disponible en:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.4347>

ANEXOS

ANEXO N°1 Ubicación del lugar donde se recolecto la planta

ANEXO N°2 Obtención de la planta



EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Da constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase:** Equisetopsida
- Subclase:** Magnoliidae
- Superorden:** Asteranae
- Orden:** Lamiales
- Familia:** Lamiaceae
- Género:** *Clinopodium*
- Especie:** *Clinopodium pulchellum*
(Kunth) Govaerts
- Nombre común:** "panisara"

Muestra alcanzada a este despacho por LENIN LUIS AREDO CEDANO, identificado con DNI: 73735872, con domicilio legal en Centro poblado California av. Los Laureles s/n., Virú. Estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la realización de la tesis: "Evaluación in vitro del efecto Antibacteriano del extracto Hidroalcohólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* "panisara" sobre *Escherichia coli*".

Se expide la presente constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

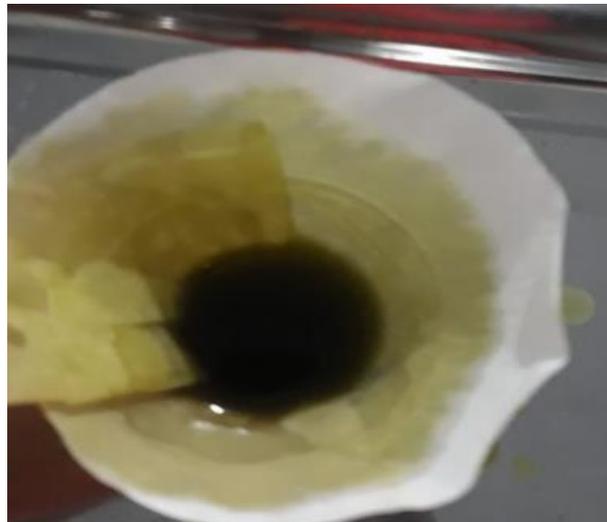
Trujillo, 01 de Marzo del 2022



Dr. José Mostacero León
Director del Herbario HUT

ANEXO N°2 Certificación de *Clinopodium Pulchellum*

ANEXO N°3 Obtención del Extracto



ANEXO N°3 Rotulación de las placas Petri para los distintos grupos



ANEXO N°3 Preparación del Agar Muller Hinton para el sembrado de la bacteria Escherichia Coli



ANEXO N°4 Sembrado de la bacteria Escherichia Coli, en Agar Muller Hinton



ANEXO N°5 Colocación de discos en la placa Petri, luego del sembrado de la bacteria Escherichia Coli



ANEXO N°6 Incubacion de las placas Petri con el sembrado de la bacteria



ANEXO N°6 Lectura de los halos de inhibición

