



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO, División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Formato SS-T

SOLICITUD DE TÉRMINO DE SERVICIO SOCIAL

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
PRESENTE

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

Datos del Alumno

Nombre : Astrid Magdalena Argueta Ramos	
Matrícula : 2162028071	Licenciatura : Química Farmacéutica Biológica <input type="checkbox"/>
Domicilio : Filomeno Gonzalez 36 Colonia Santo Tomás Ajusco. Delegación Tlalpan. Ciudad de México. C.P. 14710	
Teléfono : 5558461248	Celular : 5541353504
Correo Electrónico : astridargueta13@gmail.com	CURP : AURA940613MDFRMS02

Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto :	Síntesis y evaluación de la actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata y extractos de plantas con actividad antioxidante						
Lugar donde se realizó el Servicio Social :	Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular del Departamento de Atención a la Salud y Laboratorio de Químico Orgánico y Productos Naturales						
Dependencia :	Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco						
Entidad Federativa :	Distrito Federal						
Municipio :	Coyoacán			Localidad :	Coyoacán		
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año
	31	1	2020		31	7	2020

PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

Sector: <u>1.- Educativo</u> <input type="checkbox"/>	Tipo: <u>2.- Interno</u> <input type="checkbox"/>
Orientación: <u>8.- Salud, Alimentación Y Nutrición</u> <input type="checkbox"/>	

FIRMAS

Dr. Adá Martínez López No. 02 25243

Dr. Miguel Ángel Sánchez Sánchez No. 02 17767

Asesor Interno

Nombre, Firma y No. Económico

Astrid M. Argueta Ramos

Alumno
Nombre, Firma

Asesor Externo

Nombre, Firma y No. Económico

M. en C. Alma E. Ibarra Cázares 32807

Vo. Bo. de la Comisión
Nombre y firma de la persona que autoriza



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Ciudad de México 30 de Octubre de 2020

ASUNTO: CARTA DE LIBERACIÓN DE SERVICIO SOCIAL

Dr. J. Esteban Barranco Florido
Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco
PRESENTE

Por este medio me permito comunicar a usted que la alumna **ASTRID MAGDALENA ARGUETA RAMOS**, matrícula número **2162028071**, de la carrera de **QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**; realizó el Servicio Social en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco: en el Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular del Departamento de Atención a la Salud y en el Laboratorio de Química Orgánica y Productos Naturales; con el proyecto titulado: *“Síntesis y evaluación de la actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata y extractos de plantas con actividad antioxidante”* bajo la asesoría de la **Doctora Aída Hamdan Partida**, núm. econ. **26343** y del **Doctor Miguel Ángel Zavala Sánchez**, núm. econ. **17767**, ambos como asesores internos.

La alumna realizó el servicio social en el periodo del **31 de Enero del 2020 al 31 de Julio del 2020**; cubriendo un total de **480 horas**.

Por lo que solicito su apoyo para los trámites de liberación correspondientes.

Sin más, reciba saludos cordiales.

Dra. Aída Hamdan Partida 26343

Profesora Titular "C"

Depto. de Atención a la Salud

ahamp@correo.xoc.uam.mx

Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez 17767

Profesor Titular "C"

Depto. de Sistemas Biológicos

mzavala@correo.xoc.uam.mx



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Informe Final de Servicio Social

Síntesis y evaluación de la actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata y extractos de plantas con actividad antioxidante

Alumna: Astrid Magdalena Argueta Ramos

Licenciatura: Química Farmacéutica Biológica

Matrícula: 2162028071

División: Ciencias Biológicas y de la Salud

Unidad: Xochimilco

Asesores internos

Dra. Aída Hamdan Partida No. Económico: 26343

Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez No. Económico: 17767

Periodo de realización: 31 de enero de 2020 al 31 de julio de 2020

Lugar de realización:

- Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular del Departamento de Atención a la Salud. G-004. UAM- Xochimilco.
- Laboratorio de Química Orgánica y Productos Naturales. N-008. UAM-Xochimilco

Introducción

El interés sobre especies químicas de tamaño nanométrico es una de las áreas de trabajo más importantes en la investigación debido a la gran variedad de propiedades y potenciales aplicaciones que es posible explotar en diversos campos. En el ámbito farmacéutico, el uso de nanopartículas tiene gran potencial como vehículo para transportar fármacos que mejoren la selectividad y efectividad del tratamiento. Las propiedades biomédicas de las nanopartículas de plata constituyen también un campo de investigación de gran relevancia. La mayoría de las investigaciones a este respecto se basan en las propiedades antimicrobianas de las nanopartículas de plata, aunque existen también estudios sobre sus propiedades antivirales, fungicidas o de cicatrización (Monge, 2009).

Muchas de las tecnologías aplicadas para la síntesis de nanopartículas de plata, se encuentran fundamentalmente basadas en procesos físicos y químicos, que presentan desventajas no sólo desde el punto de vista económico (altos costos), o tecnológico (necesidad de equipamiento especializado), sino también desde el punto de vista ambiental por el requerimiento del uso de solventes orgánicos de elevada toxicidad y otros compuestos químicos de alta agresividad. Por lo anterior, en la actualidad se exploran tecnologías más factibles y amigables con el medio ambiente (Travieso-Novelles et al., 2019).

En este proyecto se pretende obtener compuestos de nanopartículas de plata a través de la metodología de síntesis verde utilizando extractos de plantas; para su posterior evaluación de actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, así como su actividad antifúngica frente a hongos como *Candida albicans*.

Antecedentes

Una de las grandes innovaciones de las últimas décadas en el área de desarrollo y formulación de medicamentos es la aplicación de la nanotecnología para mejorar la eficacia de los fármacos dentro del organismo. Los distintos materiales empleados como matrices de transporte y liberación ofrecen un perfil farmacocinético controlado, una posible administración dirigida hacia el órgano blanco mediante el uso de materiales con afinidad hacia ciertos compuestos biológicos y una distribución enmascarada por las propiedades de la matriz que ofrecen protección al fármaco encapsulado contra su posible degradación o eliminación a través de distintas barreras biológicas, y reducción de toxicidad (Gómez, 2013).

Las nanopartículas para propósitos farmacéuticos se definen como las partículas coloidales sólidas con un rango de tamaño de 1 a 1,000 nm. Consisten en materiales macromoleculares y se pueden usar terapéuticamente también como transportadores de fármacos en los cuales el principio activo (fármaco o material activo biológicamente) está disuelto, entrampado o encapsulado, o en el cual el principio activo está adsorbido o enlazado covalentemente (Ghosh, 2008).

Las nanopartículas metálicas, en particular, poseen propiedades interesantes con aplicaciones en diversas áreas tecnológicas. Respecto a sus primeros usos puede citarse el caso de la cultura egipcia, que empleaba nanopartículas de oro como coloides medicinales y la civilización china, que además de utilizarlas con fines curativos, también las empleaban como colorantes inorgánicos en porcelanas (Gutiérrez Wing, 2006).

Aun cuando se tenían antecedentes de la utilización de nanopartículas metálicas, no fue sino hasta 1857 que Faraday realizó el primer estudio sistemático de nanopartículas, presentando un estudio de la síntesis y propiedades de coloides de oro. Desde esa época hasta la fecha, grandes avances se han logrado en el conocimiento de las nanopartículas metálicas: se han desarrollado diversos métodos de síntesis químicos y físicos, con la finalidad de controlar el diseño de sus dimensiones, forma, composición y modificadores de superficie, con el fin de regular su comportamiento frente a diversos estímulos (Gutiérrez Wing, 2006).

Asimismo, se ha profundizado en el conocimiento de su estructura electrónica con base en el número de átomos que las conforman y su efecto en las propiedades del material. Las propiedades únicas que muestran las nanopartículas metálicas provienen de la alta relación superficie-volumen, del confinamiento cuántico del movimiento electrónico en nanopartículas semiconductoras, de la resonancia de plasmones superficiales en algunas partículas metálicas o del superparamagnetismo en nanomateriales magnéticos (Monge, 2009).

La plata ha sido empleada durante miles de años como metal precioso por el ser humano en aplicaciones tan dispares como joyería, utensilios, moneda, fotografía o explosivos. De todos estos usos, uno de los más importantes es su empleo como agente desinfectante con fines higiénicos y médicos. En los siglos XVII y XVIII se empleó nitrato de plata para el tratamiento de úlceras y su actividad antimicrobiana se estableció en el siglo XIX. La plata en forma de nanopartículas incrementa el área superficial mejorando la eficiencia antibacteriana contra 150 tipos de microorganismos, incluyendo los resistentes a fármacos (Gómez, 2013).

La creciente problemática de resistencia bacteriana y el aumento en el costo de los tratamientos causados por infecciones bacterianas han favorecido el desarrollo de nuevas alternativas como las nanopartículas de plata (González, 2017).

Recientemente la Organización Mundial de la Salud publicó los primeros datos sobre la vigilancia de la resistencia a los antibióticos, los cuales reflejan que los niveles de resistencia a algunas infecciones bacterianas graves son elevados. El nuevo Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos de la OMS confirmó la presencia generalizada de resistencia a los antibióticos en muestras de 500 000 personas de 22 países en las que se sospechaban infecciones bacterianas, informándose entre las bacterias resistentes más frecuentes a: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, seguidas de *Salmonella spp.* En este sentido, la OMS reconoció a la

Resistencia a los Antimicrobianos como un problema complejo y multifactorial que afecta a toda la sociedad, por lo que debe enfrentarse con intervenciones integrales que incluyan la investigación y el desarrollo de nuevos antimicrobianos, vacunas y pruebas diagnósticas.

Con el avance de la tecnología hasta la escala nanométrica surgen nuevas vías para el diseño y desarrollo de sistemas antimicrobianos basados en nanopartículas, con gran aplicación en el sector biomédico (Travieso-Novelles et al., 2019).

Varios estudios indican que las nanopartículas de plata se pueden adherir a la membrana, alterando la permeabilidad celular y funciones respiratorias de la célula bacteriana. Es posible que las nanopartículas de plata no sólo interactúen con la superficie de la membrana, sino que también penetren al interior de la bacteria. El efecto bactericida de las nanopartículas de plata puede ser un sinergismo de los siguientes mecanismos: 1) Las nanopartículas de plata desestabilizan la membrana bacteriana, y con esto, alteran su permeabilidad, provocando un daño irreversible. 2) Las nanopartículas de plata se internalizan en la bacteria con facilidad debido a su tamaño diminuto. 3) Las nanopartículas de plata en su trayecto van liberando iones de plata que funcionan como un reservorio del agente bactericida alterando el citoplasma. 4) Los iones de plata se enlazan con grupos sulfhidrilos de biomoléculas y con compuestos fosforosulfurados como el ADN inactivando a la bacteria (Gómez, 2013).

En el ámbito médico, existen apósitos para heridas, dispositivos anticonceptivos, instrumental quirúrgico y prótesis óseas, recubiertos o integrados con nanopartículas de plata para así evitar el crecimiento bacteriano. Además, también se está evaluando la utilización de las nanopartículas de plata contra el tratamiento de enfermedades que requieren una concentración mantenida de fármaco en sangre o con un direccionamiento específico a células u órganos. Las nanopartículas de plata también están incorporadas en la industria textil para la fabricación de prendas de vestir, como ropa interior y calcetines; ya que mediante la introducción de nanopartículas de plata en fibras sintéticas o naturales consiguen rápidos efectos antimicrobianos o antiolor. Finalmente, las nanopartículas de plata también tienen su aplicación en el sector alimentario, concretamente en agricultura y en el envasado de los alimentos. Dentro del campo de la agricultura, las nanopartículas de plata se emplean para prolongar la conservación de frutos; ya que además de su actividad antibacteriana, presentan un efecto fungistático que retarda el crecimiento de hongos fitopatógenos (Ávalos, 2013).

En la actualidad se han desarrollado varios métodos para las síntesis de nanomateriales y se pueden dividir en dos grandes grupos: las síntesis por Bottom-Up donde los nanomateriales se construyen a partir de la unión o del establecimiento de enlaces entre entidades (átomos, moléculas o partículas) pequeñas para formar estructuras prismáticas, cilíndricas o algunas otras, los métodos que se usan son químicos y recientemente biológicos; y las síntesis por Top-Down en la que los métodos físicos (ej. procesos de molienda) y químicos reducen el tamaño del material y dependen en gran medida de la superficie del

material, los nanomateriales resultantes de esta técnica son, en su mayoría, imperfectos (González, 2017).

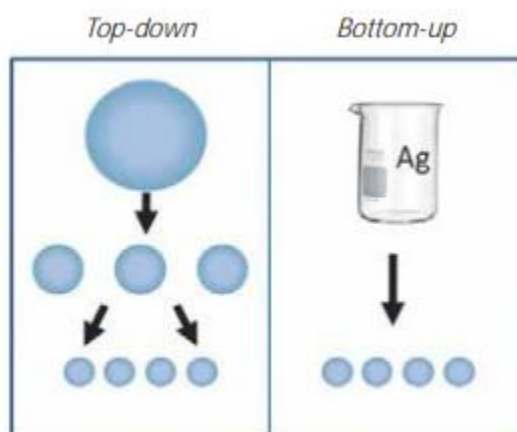


Figura 1. Métodos generales de obtención de nanopartículas (Nps). Método de obtención a partir de algo más grande (Top-down) y método de obtención a partir de algo más pequeño (Bottom-up). (Gómez, 2013)

El método más común para la preparación de nanopartículas de plata consiste en la reducción de una solución salina de plata con un agente reductor como el borohidruro de sodio, el citrato o el ascorbato. La tendencia de los métodos de síntesis, actualmente, se enfoca en el uso de compuestos que no causan daño al medio ambiente; a esto se le conoce como síntesis verde (Gómez, 2013).

La síntesis de nanopartículas por métodos biológicos se puede realizar con organismos completos como procariontes (bacterias) y eucariotas como hongos y plantas; en cuyo caso se pueden emplear los extractos de hojas, tallos y raíces, los cuales contienen diferentes moléculas que favorecen la forma y el tamaño de la nanopartícula (González, 2017).

De forma general, a partir de plantas se obtienen diferentes tipos de nanopartículas que pueden dividirse en dos grandes grupos:

1. Nanopartículas simples o no metálicas (NPs): Formadas por la precipitación de compuestos fitoquímicos o metabolitos secundarios de plantas.
2. Nanopartículas metálicas (NPM): Formadas por la reacción de componentes o metabolitos secundarios de plantas con soluciones de sales de metales (donantes de cationes metálicos). Los fitoquímicos actúan como agentes reductores y/o estabilizantes de los cationes metálicos los cuales reducen, para formar un complejo metabolito- catión reducido, de tamaño en el orden de la nanoescala (Travieso-Novelles et al., 2019).

Desde un punto de vista químico, la síntesis de nanopartículas en disolución (disolución coloidal) requiere del empleo de métodos que permitan obtener un control preciso sobre el tamaño y la forma de las nanopartículas para así obtener

un conjunto de partículas monodispersas que presenten una propiedad determinada. En general, la síntesis de nanopartículas metálicas en disolución se lleva a cabo mediante el empleo de los siguientes componentes: 1) precursor metálico; 2) agente reductor; 3) agente estabilizante (Monge, 2009).

En el caso de las nanopartículas de plata los primeros métodos descritos son el método Lee-Meisel y el método Creighton. El primero de ellos consiste en emplear AgNO_3 como precursor metálico y citrato de sodio como agente reductor. En el método Lee-Meisel se obtienen nanopartículas de plata con una distribución amplia de tamaño de partícula (polidispersas). El método Creighton consiste en la reducción de AgNO_3 con el agente reductor NaBH_4 . Este método es el más popular en la actualidad y da lugar a la obtención de nanopartículas de plata de aproximadamente 10 nm y con una distribución estrecha de tamaños (monodispersas) (Monge, 2009).

También se han utilizado otra serie de agentes reductores como ácido ascórbico, polioles o monosacáridos. En el caso de los monosacáridos, se ha desarrollado un método denominado "verde" por su respeto por el medioambiente. En este método se provoca la reducción química de la sal AgNO_3 mediante el empleo de β -D-glucosa como agente reductor en presencia de almidón como agente estabilizante, lo que da lugar a la obtención de nanopartículas de plata de aproximadamente 5 nm (Monge, 2009).

Sin embargo, muchas de las tecnologías aplicadas para este fin, fundamentalmente basadas en procesos físicos y químicos, presentan desventajas no sólo desde el punto de vista económico (altos costos), o tecnológico (necesidad de equipamiento especializado), sino también desde el punto de vista ambiental por el requerimiento del uso de solventes orgánicos de elevada toxicidad y otros compuestos químicos de alta agresividad, entre otras razones que hacen que en la actualidad se dirijan los esfuerzos a tecnologías más factibles y amigables con el medio ambiente (Travieso-Novelles et al., 2019).

A su vez, es importante señalar que la acción antibacteriana de las nanopartículas de plata es altamente dependiente del tamaño de la partícula, morfología y dosis. Las nanopartículas deben de ser lo suficientemente pequeñas para penetrar las membranas celulares y con ello afectar el proceso intracelular. Es razonable pensar que la interacción de las partículas con la bacteria depende del área superficial disponible. Además de la selección de un método de preparación de las nanopartículas apropiado para garantizar un tamaño de partícula bajo, es esencial la elección del agente estabilizante superficial para mantener un tamaño de partícula uniforme y una dispersión estable en el transcurso del tiempo (Gómez, 2013).

Para dilucidar la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata se han determinado dos parámetros como son la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), que es la concentración mínima de nanopartículas necesaria para la inhibición del crecimiento de los microorganismos, y por otro lado, la Concentración Bactericida


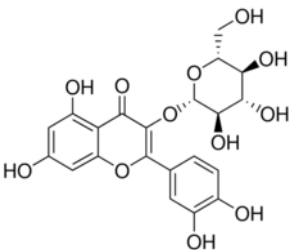
Mínima (CMB), que es la concentración mínima de nanopartículas necesaria para eliminar un 99.9% o más del inóculo bacteriano inicial a las 24 h de contacto entre las nanopartículas y el microorganismo (Monge, 2009).

La evaluación de la calidad y caracterización de estas formulaciones se lleva a cabo mediante el registro del tamaño de la partícula, la morfología y la estabilidad. La relación entre la efectividad de estabilización y el poder antibacteriano tiene un vínculo en la medida de que los aglomerados de partículas provenientes de fenómenos de desestabilización pueden tener menor efecto antibacteriano por una disminución en el área superficial, limitando su capacidad de penetrar la membrana celular bacteriana (Gómez, 2013).

Las herramientas más comunes para caracterizar nanopartículas son: *la espectroscopia UV-visible* que emplea ondas de luz de 300 a 800 nm para detectar la resonancia superficial del plasmón, que depende de la morfología y de la naturaleza metálica de la nanoestructura; *dispersión de luz dinámica (DLS)* caracteriza la superficie, distribución, carga y tamaño de la partícula suspendida en líquido; *la microscopia electrónica de barrido y de transmisión (SEM y TEM, respectivamente)* se usan para la caracterización morfológica en una escala de nm hasta μm , siendo la TEM la que tiene hasta 1000 veces más resolución que la SEM; cuando se requiere conocer la superficie química, como los grupos funcionales (carbonilos, hidroxilos) u otros se emplea la *Espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)*, *la difracción de rayos X (XRD)* determina la estructura cristalina, los patrones obtenidos son comparados con los ya establecidos, y la *espectroscopia dispersa (EDS)* da información sobre la composición elemental de la partícula, esta última se acopla al microscopio electrónico de transmisión (González, 2017).

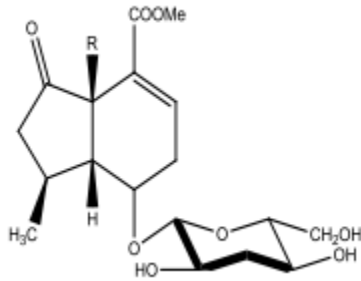
En la Tabla 1 se enlistan las plantas seleccionadas para evaluar la síntesis de nanopartículas y la actividad antimicrobiana a partir de sus extractos conforme a los compuestos químicos que contienen.

Tabla 1. Plantas con actividad antioxidante evaluadas

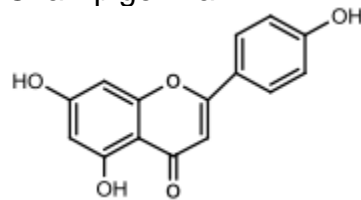
Planta	Compuesto químico	Actividad
<p><i>Cuphea aequipetala</i></p> 	<p>Compuestos fenólicos: Flavonoide quercetina 3-β-D-glucósido</p> 	<p>Antioxidante Antiinflamatoria Antitumoral</p>
<p><i>Verbena carolina</i></p>	<p>Compuestos glicosilados de derivados iridoides,</p>	<p>Analgésicos Antiinflamatorios</p>



feniletanoides, flavonoides, triterpenos, esteroides, etc. Como la Verbenalina y el Hastatósido



O la Apigenina



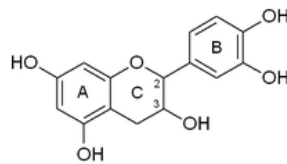
Antioxidantes
Antifúngicos
Actividad promotora del sueño

Moringa
(*Moringa oleífera*)

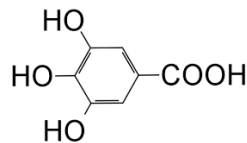


Taninos, saponinas, polifenoles (flavonoides tales como campferol, quercetina, mirecetina, isoramnetina y rutinósidos), glucósidos fenólicos (niazirina y niazicina), esteroides y glucoesteroides, ácidos grasos y alcaloides.

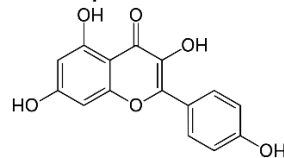
Por ejemplo:
Catequina



Ácido gálico

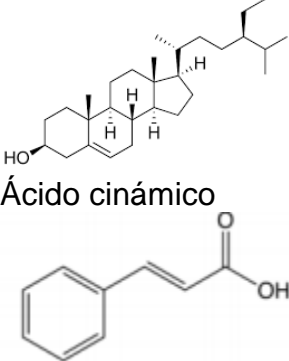

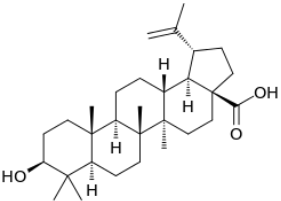
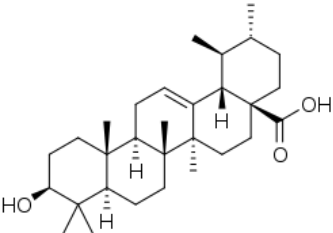
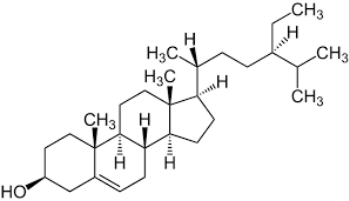
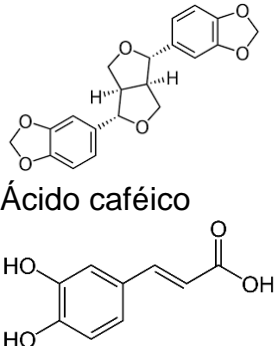



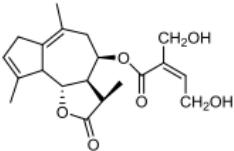
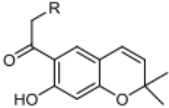
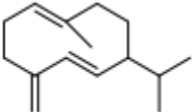
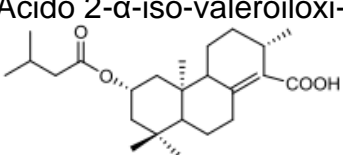
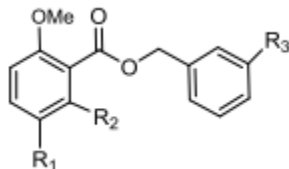
Caempferol



β-sitosterol

Antioxidante
Antiinflamatorio
Antibiótico
Antifúngico
Reductor de colesterol
Antidiabético
Anticarcinógeno

	 <p>Ácido cinámico</p>	
<p>Hierba martina (<i>Hyptis verticillata</i>)</p> 	<p>Triterpenos Esteroides Por ejemplo: Ácido betulínico</p>  <p>Ácido ursólico</p>  <p>Sitosterol</p>  <p>Sesamina</p>  <p>Ácido caféico</p>	<p>Antioxidante Antiinflamatoria Citotóxica</p>
<p><i>Ageratina petiolare</i></p>	<p>Derivados del timol, lactonas sesquiterpénicas, cromenos,</p>	<p>Antioxidante Anticoagulante</p>

	<p>triterpenoides y diterpenoides derivados del <i>ent</i>-labdano. Por ejemplo: Petiolarida</p>  <p>Eupatoriocromeno</p>  <p>Germacreno D</p>  <p>Ácido 2-α-iso-valeroiloxi-eperuico</p>  <p>Bencilbenzoatos</p> 	<p>Antidiabético (hipoglucemiante) Antihistamínico Inmunoestimulante</p>
---	--	--

Objetivo General

Obtener compuestos de nanopartículas de plata y extractos de *Verbena carolina*, *Hyptis verticillata*, *Cuphea aequipetala*, *Ageratina petiolare* y *Moringa oleífera* para evaluar su actividad antimicrobiana.

Objetivos específicos

1. Obtención y caracterización de extractos de las plantas.
2. Síntesis de nanopartículas de plata a través de extractos de plantas.
3. Obtención de nanopartículas de plata a través de síntesis verde.
4. Determinación de la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata obtenidas por medio de síntesis orgánica.
5. Determinación de la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata obtenidas por medio de extractos de plantas.

Proyecto Genérico correspondiente:

Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

Etapas correspondientes:

- Obtención de compuestos orgánicos utilizados en la preparación de insumos para la salud
- Extracción de principios activos o sustancias auxiliares a partir de productos naturales

Hipótesis

Las nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis orgánica y extractos de plantas poseen actividad antimicrobiana.

Metodología

A. Obtención de extractos acuosos de las plantas seleccionadas

Las plantas y el material utilizado se obtuvieron del laboratorio de Química Orgánica y Productos Naturales (N-008) de la UAM-Xochimilco.

Se recolectaron, desecaron y caracterizaron botánicamente las plantas objeto de estudio. Se pesaron 25 gramos de hojas secas cortadas en pequeños trozos de cada una de las plantas. Posteriormente, se sumergieron las hojas en 400 ml de agua destilada dentro de un matraz Erlenmeyer. Se cubrió cada matraz para evitar evaporación y se dejó reposar por una semana.

Finalmente, se filtró al vacío el contenido de cada matraz. Se recolectó el filtrado y se desecharon las hojas. Los extractos se guardaron en refrigeración hasta ser requeridos.

B. Síntesis de AgNPs

El material utilizado se obtuvo del laboratorio de Microbiología y Biología Molecular del Departamento de Atención a la Salud (G-004) de la UAM-Xochimilco. Se pesaron 16.7 mg de AgNO_3 y se disolvieron en 100 ml de agua desionizada para preparar una disolución 1 mM de AgNPs.

C. Evaluación de actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos obtenidos

El material utilizado se obtuvo del laboratorio de Microbiología y Biología Molecular del Departamento de Atención a la Salud (G-004) de la UAM-Xochimilco.

Las cepas utilizadas fueron las siguientes:

- *Escherichia coli* ATCC 10586
- *Candida albicans* ATCC 10231
- *Salmonella typhimurium* ATCC 14028
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

Se añadieron 200 μ L de cada cepa a cada tubo con 0.1 ml de caldo soya. Posteriormente, utilizando un densitómetro Densimat, se verificó que cumpliera con el patrón de McFarland al 0.5; lo que corresponde aproximadamente a una suspensión homogénea de 1.5×10^8 células bacterianas por ml.

Posteriormente, se realizó la siembra de cada una de las cepas en placas de cultivo con agar Mueller Hinton.

Finalmente, para evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos de las plantas frente a las cepas seleccionadas, se realizaron antibiogramas con los extractos impregnados en discos de papel filtro esterilizados que se depositaron en la superficie del medio de cultivo inoculado. Se dejaron incubar a 37°C en aerobiosis.

D. Síntesis de AgNPs a partir de la reducción de los extractos de las plantas

La síntesis de AgNPs se llevó a cabo mediante la reducción de los extractos acuosos de las plantas utilizando una solución de AgNO_3 1 mM. En un vaso de precipitados, se adicionaron 20 ml de extracto junto con 80 ml de agua y 16.7 mg de AgNO_3 para preparar una solución 1mM. De tal manera que: Solución 1mM=16.7 mg de AgNO_3 /100mL.

Finalmente, se mezclaron con agitador magnético y protegidos de la luz, durante 24 h.

E. Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria (DMIC)

Se utilizaron tubos de 10 mL de caldo Mueller Hinton en los cuales se inoculó el microorganismo a analizar. Una vez obtenido el inóculo de turbidez comparable al 0.5 de Mc Farland, se realizó una dilución 1:150; de esta manera se obtiene un recuento de 1×10^6 UFC/mL.

Se dejó un tubo control (sin AgNPs) para cada una de las pruebas realizadas. Posteriormente, utilizando 6 tubos de 1 mL de caldo Mueller-Hinton, se realizaron diluciones seriadas para determinar la concentración mínima inhibitoria.

Se agregó 1 ml del inóculo estandarizado al primer tubo y 1 ml de la disolución de AgNPs del primer extracto, y se homogeneizó la mezcla; resultando en la dilución 1:2. En seguida, se tomó 1 ml de dicha disolución y se colocó en el segundo tubo resultando en la disolución 1:4; y así

sucesivamente hasta preparar una disolución 1:64. El último mL tomado de la disolución 1:64 fue desechado. Una vez preparados todos y cada uno de los tubos, se incubaron a 37°C con agitación durante 24 h.

Este procedimiento se realizó para cada una de las 5 disoluciones de AgNPs obtenidas a partir de los extractos.

Resultados y discusión de resultados

A. Evaluación de actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos obtenidos

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos de los antibiogramas realizados.

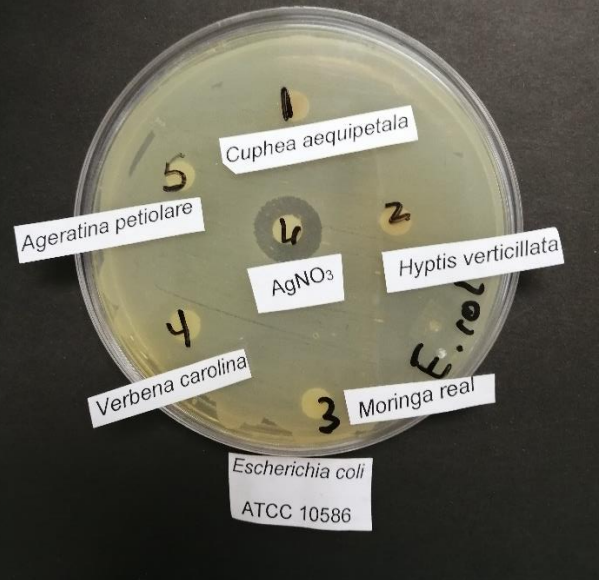
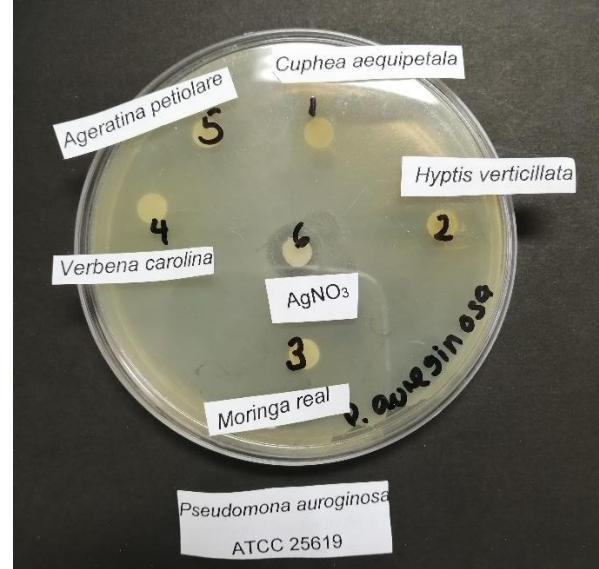
Los discos impregnados se identifican de la siguiente manera:

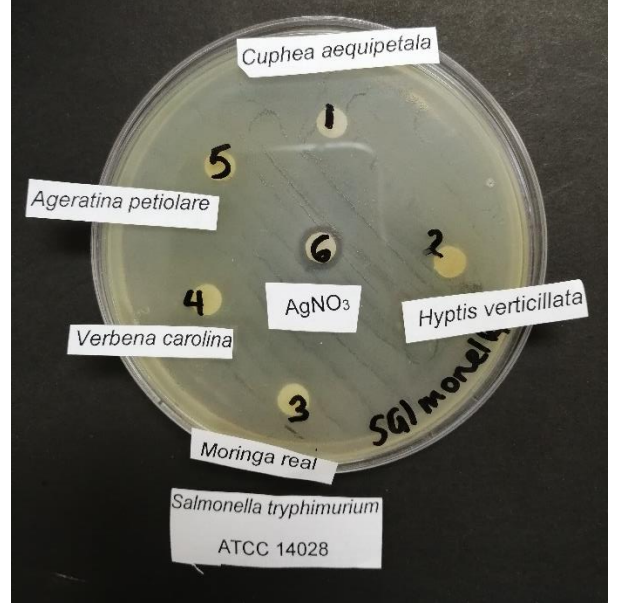
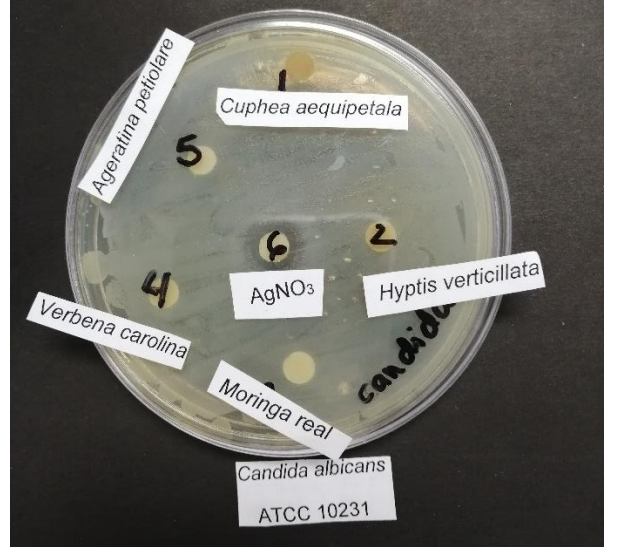
1. *Cuphea aequipetala*
2. Hierba martina (*Hyptis verticillata*)
3. *Moringa oleífera*
4. *Verbena carolina*
5. *Ageratina petiolare*
6. AgNO₃ 1mM


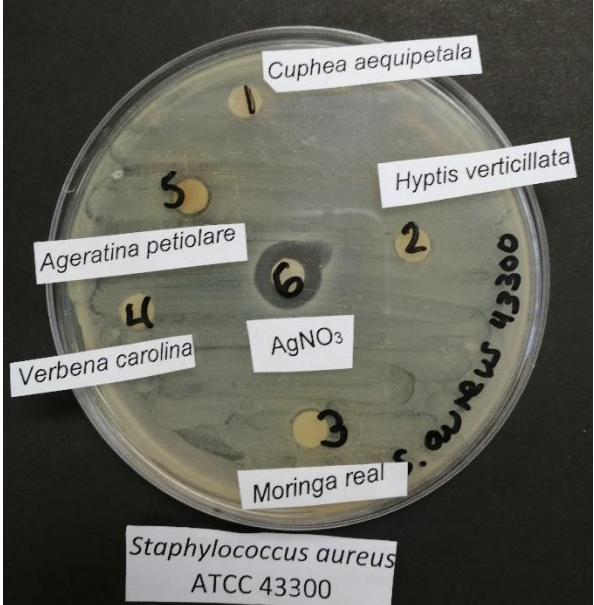
Como podemos observar en la Tabla 1, el disco 6 impregnado con AgNO₃ 1 mM, presentó halo de inhibición en todos los casos. Por otro lado, ningún extracto presentó halo de inhibición para *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Salmonella typhinurium* y *Pseudomona aeruginosa*.

Sin embargo, cabe destacar que para *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, además del disco 6 impregnado con AgNO₃, también el disco 1 impregnado con *Cuphea aequipetala*, presentó halo de inhibición frente a esta cepa. Para el caso de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, los discos 3 (*Moringa oleífera*), 5 (*Ageratina petiolare*) y 6 (solución de AgNO₃) presentaron halo de inhibición.

Tabla 1. Resultados antibiogramas

Microorganismo analizado	Observaciones	
<p><i>Escherichia coli</i> ATCC 10586</p>	<p>Sólo el disco 6 (AgNO₃ 1mM) presenta halo de inhibición.</p> <p>Diámetro: 15 mm</p>	 <p>The image shows a petri dish with a bacterial lawn of <i>Escherichia coli</i> ATCC 10586. Six numbered disks are placed on the surface: 1 (Cuphea aequipetala), 2 (Hyptis verticillata), 3 (Moringa real), 4 (Verbena carolina), 5 (Ageratina petiolare), and 6 (AgNO₃). Only disk 6 shows a distinct, circular zone of inhibition. The bacterial strain name and ATCC number are printed at the bottom of the dish.</p>
<p><i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 25619</p>	<p>Sólo el disco 6 (AgNO₃ 1mM) presenta halo de inhibición.</p> <p>Diámetro: 12 mm</p>	 <p>The image shows a petri dish with a bacterial lawn of <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 25619. Six numbered disks are placed on the surface: 1 (Cuphea aequipetala), 2 (Hyptis verticillata), 3 (Moringa real), 4 (Verbena carolina), 5 (Ageratina petiolare), and 6 (AgNO₃). Only disk 6 shows a distinct, circular zone of inhibition. The bacterial strain name and ATCC number are printed at the bottom of the dish.</p>

<p><i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028</p>	<p>Sólo el disco 6 (AgNO₃ 1mM) presenta halo de inhibición.</p> <p>Diámetro: 10 mm</p>	
<p><i>Candida albicans</i> 10231</p>	<p>Sólo el disco 6 (AgNO₃ 1mM) presenta halo de inhibición.</p> <p>Diámetro: 12 mm</p>	

<p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Disco 1 (<i>Cuphea aequipetala</i>) presenta halo de inhibición. Diámetro: 10 mm - Disco 6 (AgNO₃ 1mM) presenta halo de inhibición. Diámetro: 15 mm 	
<p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Disco 3 (<i>Moringa</i>) presenta halo de inhibición. Diámetro: 8 mm - Disco 5 (<i>Ageratina petiolare</i>) presenta halo de inhibición. Diámetro: 9 mm - Disco 6 (AgNO₃) presenta halo de inhibición. Diámetro: 15 mm 	

Es posible que los resultados de la tabla anterior se encuentren relacionados con las propiedades de los compuestos polares extraídos con la fase acuosa de las plantas analizadas, así como de la naturaleza de cada cepa estudiada.

Para *S. aureus* ATCC 29213, la actividad antibiótica de *Cuphea aequipetala* se debe a los compuestos fenólicos que contiene y que actúan a nivel de la estabilidad de la membrana celular de la bacteria (Waizel, 2013).

Para *S. aureus* ATCC 43300, la actividad antibiótica de *Moringa oleífera* y *Ageratina petiolare* se debe a los compuestos fenólicos y triterpenos que contienen y que actúan a nivel de la estabilidad de la membrana celular de la bacteria (Velázquez-Zavala, 2016).

A nivel general, estos compuestos producen un desordenamiento estructural de la membrana citoplásmica, que interfiere con su funcionamiento normal. Esto provoca la pérdida de pequeños metabolitos del medio intracelular y dificulta tanto el transporte activo como el metabolismo energético (Hoyos-Serrano et al., 2014).

Es posible observar que el efecto antimicrobiano de un agente cambia con relación a las distintas cepas, incluso dentro de una misma especie bacteriana.

B. Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria (DMIC)

Debido a que *S. aureus* 43300 es el microorganismo que presentó mayor respuesta al antibiograma, fue el de elección para realizar esta prueba.

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos. Se consideró como que hubo crecimiento en todos aquellos tubos en donde se apreció turbidez. Se consideró que no hubo crecimiento en aquellos tubos en donde no se observó turbidez alguna. Conforme a lo anterior, “Positivo” indica que no hubo inhibición del crecimiento del microorganismo; por lo tanto, la solución del extracto con AgNPs no posee actividad antimicrobiana. “Negativo”, se resalta en la tabla en color amarillo, e indica que sí hubo inhibición del crecimiento del microorganismo; por lo tanto, la solución del extracto con AgNPs sí posee actividad antimicrobiana.

Tabla 2. Resultados de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria

Microorganismo	Extracto con AgNPs	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
<i>S.aureus</i> ATCC 43300	<i>Cuphea aequipetala</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
	Hierba martina (<i>Hyptis verticillata</i>)	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
	<i>Moringa oleífera</i>	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
	<i>Verbena carolina</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
	<i>Ageratina petiolare</i>	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
	AgNO ₃ 1 mM	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

De acuerdo con la Tabla 2, las soluciones de *Moringa oleífera*, *Ageratina petiolare* y AgNO₃ 1mM, poseen actividad antimicrobiana.

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), es la concentración mínima de solución necesaria para la inhibición del crecimiento de los microorganismos y será la más diluida de todos los tubos en donde no se observa crecimiento alguno (Camacho-Peiro et al., 2013).

Para el cálculo de la CMI, es necesario recordar que cada solución contenía 16.7mg/100 ml; por lo que equivale a 0.167 mg/mL.



Figura 2. DMIC para *Moringa oleífera* con *S. aureus* 43300

Como se aprecia en la Figura 2, para *Moringa oleífera*, se observó turbidez de los tubos 3 a 6 (de la dilución 1:8 a 1:64). Los tubos 1 y 2 (diluciones 1:2 y 1:4) no presentan turbidez y, por lo tanto, tampoco presentan crecimiento bacteriano. La concentración mínima inhibitoria o punto de corte se calcula de la siguiente manera:

$$\frac{0.167 \text{ mg}}{4 \text{ ml}} = 0.04175 \text{ mg/mL}$$

La concentración mínima inhibitoria o punto de corte para *Moringa oleífera* es 0.04175 mg/ml.



Figura 3. DMIC para *Ageratina petiolare* con *S. aureus* 43300

Como se aprecia en la Figura 3, para *Ageratina petiolare*, se observó turbidez de los tubos 2 a 6 (de la dilución 1:4 a 1:64). El tubo 1 (dilución 1:2) no presenta turbidez y, por lo tanto, tampoco presenta crecimiento bacteriano. La concentración mínima inhibitoria o punto de corte se calcula de la siguiente manera:

$$\frac{0.167 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} = 0.0835 \text{ mg/mL}$$

La concentración mínima inhibitoria o punto de corte para *Ageratina petiolare* es 0.0835 mg/ml.

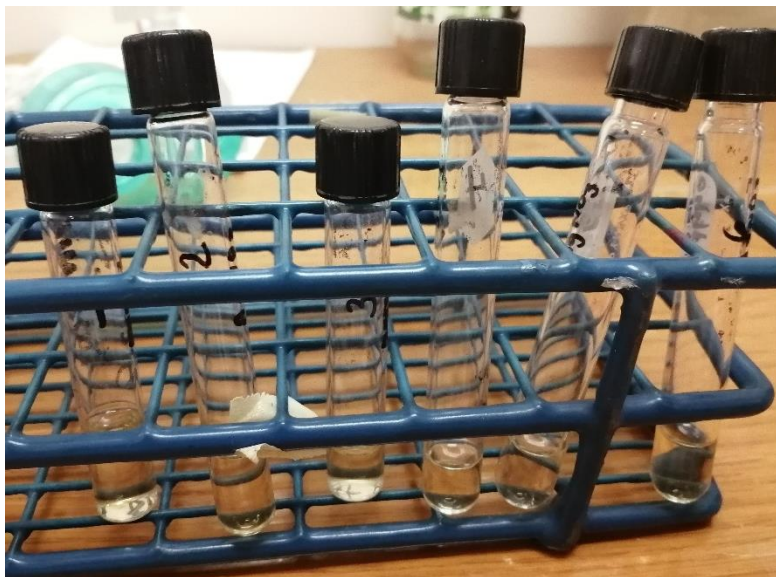


Figura 4. DMIC para AgNO₃ con *S. aureus* 43300

Como se aprecia en la Figura 3, para AgNO₃, no se observó turbidez en ninguno de los tubos y, por lo tanto, tampoco presentaron crecimiento bacteriano. La concentración mínima inhibitoria o punto de corte se calcula de la siguiente manera:

$$\frac{0.167 \text{ mg}}{64 \text{ ml}} = 0.00261 \text{ mg/mL}$$

La concentración mínima inhibitoria o punto de corte para AgNO₃ 1 mM es 0.00261 mg/ml.

Los resultados anteriores de la determinación de la CMI concuerdan con la actividad de los extractos puros frente a *S. aureus* 43300 en los antibiogramas realizados. Como se mencionó anteriormente, es posible inferir que la actividad antimicrobiana de los extractos reducidos se debe principalmente a los compuestos químicos inherentes a la planta, sin embargo, en este caso, también puede relacionarse a la reacción de dichos compuestos con AgNO₃.

Algunas especies del género *Ageratina* son utilizadas en el tratamiento de infecciones bacterianas, infecciones fúngicas, así como agentes antiinflamatorios y analgésicos. De allí que se han obtenido diferentes compuestos con actividades biológicas que podrían ser estructuras líderes en el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos. Entre los constituyentes principales de este género, se encuentran los terpenoides, flavonoides y alcaloides pirrolizidínicos (Bustos, 2016).

Por otro lado, diversos estudios han comprobado la actividad de diferentes partes de la Moringa sobre microorganismos patógenos. Hasta el momento, los estudios realizados indican que *Moringa oleífera* posee varios compuestos químicos en diversas partes de la planta que le confieren múltiples propiedades. Entre ellos, se han identificado metabolitos secundarios como taninos, saponinas, polifenoles isocianatos, esteroides y glucoesteroides, ácidos grasos y alcaloides. De igual manera se reporta que principalmente los extractos de semillas, hojas y flores de esta planta tienen actividad contra bacterias y hongos. En diversos estudios la concentración mínima inhibitoria fue de 120 -200 mg/mL (Alcantara-Noriega, 2020).

Por otra parte, como se ha mencionado en la introducción de este trabajo, el efecto antimicrobiano de las sales de plata es conocido desde el siglo XIX.

En estudios realizados en la actualidad se ha establecido la plata como "oligodinámica" debido a su capacidad para producir un efecto bactericida a concentraciones muy bajas. Esta característica de los iones Ag^+ se debe a su gran reactividad frente a sustancias como proteínas, enzimas, ADN, ARN, etc. debido a las interacciones que se producen frente a grupos funcionales de tipo tiol, carboxilato, fosfato, hidroxilo, imidazol, indol o amina. Esta interacción se puede producir de manera sencilla o combinada lo que puede provocar una serie de eventos que interfieren en los procesos microbianos.

Los valores de CMI y CMB obtenidos para la actividad de las nanopartículas de plata frente a los tres microorganismos son muy bajos (12.5 – 25 $\mu g/ml$) lo que indica una muy buena actividad bacteriostática y bactericida de las nanopartículas, especialmente frente a *E. coli* y *S. aureus* (Monge, 2009).

Conclusión

Se logró la obtención y caracterización de extractos acuosos de las plantas. De igual manera, fue posible la obtención de nanopartículas de plata a partir de los extractos obtenidos, mediante síntesis verde. Asimismo, se realizó la determinación de la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata obtenidas tanto por síntesis orgánica como por síntesis verde.

Es de suma importancia continuar evaluando nuevas alternativas terapéuticas debido a la creciente problemática de resistencia bacteriana y el aumento en el costo de los tratamientos causados por infecciones bacterianas.

De este proyecto de investigación, se puede concluir que las especies de plantas estudiadas poseen diversos compuestos que son responsables de su actividad antimicrobiana, por lo que sería conveniente ampliar los estudios utilizando otro tipo de metodología para la obtención de otro tipo de extractos (ej. Metanólicos, etanólicos, etc). Así también sería importante realizar las investigaciones con material en fresco de la planta recién colectada, y compararlos con los resultados obtenidos con planta seca. De igual manera, se recomienda analizar otras partes de la planta para determinar su actividad antimicrobiana con y sin $AgNO_3$.

Bibliografía

- Alcantara-Noriega, D. (2020). *Efecto antibacteriano del extracto acuoso de la semilla de Moringa oleifera (MORINGACEAE) "MORINGA" sobre Staphylococcus aureus METICILINO resistente comparado con oxacilina in vitro.*
- Ávalos, A. (2013). Nanopartículas de plata: aplicaciones para la salud humana y el medio ambiente. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 7(2), 1-23.
- Bustos, C. (2016). *Aislamiento, determinación estructural y evaluación de la actividad biológica de metabolitos secundarios de especies del género Ageratina* (Tesis de Posgrado). Facultad de Química, UNAM.
- Camacho-Peiro et al., (2013). *Microbiología basada en la experimentación* (pp. 83-97). Amsterdam ; Barcelona [etc.]: Elsevier.
- García, A. (2012). *Estudio Químico Complementario De Las Partes Aéreas De La Planta Medicinal Verbena Carolina*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM.
- Ghosh, L. (2008). *Handbook of pharmaceutical technology*. Nueva Delhi: CBS.
- Gómez, G. (2013). Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica. *Investigación en Discapacidad*, 2(1), 18-22.
- González, M. (2017). *Efecto bactericida de nanopartículas de plata y desinfectantes sobre bacterias multirresistentes*. Toluca, Estado de México: Universidad Autónoma del Estado de México.
- Gutiérrez-Wing, C. (2006). Las nanopartículas: pequeñas estructuras con gran potencial. *El ININ hoy, Contacto Nuclear*, 24-29.
- Hoyos-Serrano et al., (2014). *Esterilización, desinfección, antisépticos y desinfectantes*. Disponible en http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014001000010&lng=es&nrm=iso
- Mahamadou, A. (2013). *Propiedades fungicida, bactericida y aglutinante de las semillas de Moringa oleifera Lam.* (Tesis de Posgrado). Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
- Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución: MIC testing. (2012). *Servicio Antimicrobiano INEI*, (32;2). Disponible en <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>
- Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, 33-41.
- Travieso-Novelles et al., (2019). Las nanopartículas a partir de plantas como base para el diseño de nuevos antimicrobianos. *Revista Cubana de Farmacia*, 51(4). Recuperado de <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/263/178>
- Velázquez-Zavala et al., (2016). Moringa (*Moringa oleifera Lam.*): usos potenciales en la agricultura, industria y medicina. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XXII(2), 95-116. doi: 10.5154/r.rchsh.2015.07.018
- Waizel, J. (2013). Estudio preliminar etnobotánico, fitoquímico, de la actividad citotóxica y antimicrobiana de *Cuphea aequipetala cav. (Lythraceae)*. *Polibotánica*, (15), 99-108. Disponible en <https://www.encb.ipn.mx/assets/files/encb/docs/polibotanica/revistas/pb15/cuphea.pdf>