UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: DISEÑO, OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE FÁRMACOS Y BIOMOLÉCULAS

"SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA PREPARADAS CON ANTIOXIDANTES EXTRAÍDOS DE ACTINOBACTERIAS MARINAS Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO CITOTÓXICO EN UNA LÍNEA CELULAR DE CÁNCER CERVICOUTERINO"

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA

Q.F.B. ANA CECILIA ZARATE JIMENEZ

MATRICULA: 2221800579

COMITÉ TUTORAL

COTUTOR: DRA. LUCÍA ORTEGA CABELLO

COTUTOR: DRA. LILIANA HERNÁNDEZ VÁZQUEZ

ASESOR: DRA. AIDA HAMDAN PARTIDA

“SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA PREPARADAS CON ANTIOXIDANTES EXTRAÍDOS DE ACTINOBACTERIAS MARINAS Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO CITOTÓXICO EN UNA LÍNEA CELULAR DE CÁNCER CERVICOUTERINO”

Vo. Bo. DEL COMITÉ TUTORAL

COTUTOR: DRA. LUCÍA ORTEGA CABELLO

COTUTOR: DRA. LILIANA HERNÁNDEZ VÁZQUEZ

ASESOR: DRA. AIDA HAMDAN PARTIDA

ALUMNO: Q.F.B. ANA CECILIA ZARATE JIMENEZ

MATRICULA: 2221800579

“SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA PREPARADAS CON ANTIOXIDANTES EXTRAÍDOS DE ACTINOBACTERIAS MARINAS Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO CITOTÓXICO EN UNA LÍNEA CELULAR DE CÁNCER CERVICOUTERINO”

JURADO DEL EXAMEN DE GRADO

PRESIDENTE. DR JOSE REYES GASGA

VOCAL. M. EN C. SAMUEL GONZÁLEZ GARCÍA

SECRETARIA. DRA. LUCÍA ORTEGA CABELLO

RESUMEN

La nanotecnología ha tenido un impacto significativo en biomedicina y farmacéutica, especialmente con el uso de nanopartículas metálicas (*NPsm*) como agentes terapéuticos con propiedades antibacterianas, antivirales, cicatrizantes y antineoplásicas. La plata se ha utilizado principalmente en el tratamiento de infecciones y recientemente se ha demostrado su potencial anticancerígeno a través de nanopartículas de plata (*AgNPs*). Se conoce la síntesis de *AgNPs* por métodos químicos el cual participan un precursor metálico, un agente reductor y un agente estabilizante los cuales se consideran tóxicos para el entorno. Por lo tanto, recientemente se ha investigado el uso de antioxidantes extraídos de microorganismos marinos, especialmente *Actinobacterias*, como alternativa más económica y ecológica con el medio ambiente. Se cultivaron cepas de *Actinobacterias* en agar infusión de cerebro y corazón BHI (por sus siglas en inglés), mostrando un crecimiento óptimo. La identificación molecular de las cepas determinó que pertenecen a la clase *Actinobacteria*, con dos cepas clasificadas como *Dietzia maris* y una como *Nocardia corallina.* La extracción de compuestos con actividad antioxidante se llevó a cabo utilizando metanol como disolvente, el cual permitió una mayor recuperación de metabolitos en comparación con la extracción secuencial siguiendo un orden de polaridad creciente. La diversidad de metabolitos secundarios incluye compuestos fenólicos, saponinas, cumarinas, alcaloides y terpenos, subrayando el potencial antioxidante de estos extractos. Las pruebas de identificación de compuestos específicos confirmaron la presencia de compuestos con actividad antioxidante, respaldando los resultados en cromatografía en capa fina (CCF). La cuantificación de metabolitos y la evaluación de la actividad antioxidante mediante UV-Vis indicaron una destacada actividad antioxidante en el extracto de *Dietzia maris* (Joc-8) y *Nocardia corallina*, sugiriendo su idoneidad para la síntesis de *AgNPs*. Con los extractos, se formaron *AgNps* a través del proceso de reducción de la plata. Sin embargo, el extracto de *Dietzia maris* (Joc-9) mostró una menor capacidad de sintetizar *AgNPs*, posiblemente por la baja actividad antioxidante. La caracterización mediante espectroscopía UV-visible confirmó la presencia de *NPsm* con un tamaño estimado entre 10 y 40 nm. En la espectroscopía FT-IR (por sus siglas en inglés), se detectó la banda característica de Ag alrededor de los 1357 cm^{-1} en todas las muestras examinadas. Además, en cuanto al análisis realizado mediante TEM por sus siglas en ingles, se observó una distribución uniforme de tamaños de las nanopartículas, principalmente entre 15 y 17 nm. En cuanto a su actividad anticancerígena, las *AgNPs* sintetizadas con los extractos demostraron inducir aproximadamente un 30-40 % de

muerte celular en la línea celular HeLa de cáncer cervicouterino, lo cual es considerado un valor significativo.

PALABRAS CLAVE: Nanotecnología, Síntesis Verde, *AgNPs*, *Actinobacterias*, Anticancerígeno, Cáncer Cervicouterino

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

A la Comisión Académica de la Maestría y Doctorado en Ciencias Farmacéuticas de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, por darme la oportunidad de poder crecer de forma personal y profesional.

Al programa de Becas para Estudios de Posgrado con el N° 001546 - MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS, por parte del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por el apoyo económico proporcionado.

Al laboratorio de Microbiología y Biología Molecular, del Departamento de Atención a la Salud, al laboratorio de Biotransformaciones N-201, así como al laboratorio de Biocatálisis Aplicada N-304 de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, por brindar el espacio y los recursos indispensables para la realización de este proyecto.

Al Instituto de Física de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente al Tec. Pablo López Arriaga y al Ing. Samuel Tehuacanero Núñez, por su gran apoyo al análisis en microscopía electrónica de transmisión.

Especialmente a la M. en Ciencias Odontológicas Veronica Gasga Tapia por su apoyo y asesoramiento en la conservación de la línea celular, así como en la ejecución del análisis anticancerígeno.

Al laboratorio de Nanotecnología y Nanomedicina, de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, especialmente al M. en C. Gustavo Jardón Guadarrama por el apoyo en la realización del análisis en Espectrometría Infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR).

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

En primer lugar, deseo expresar mi profundo agradecimiento a mi madre Anel, quien ha sido un apoyo inquebrantable en mi camino hacia el logro de mis metas personales y académicas. Su amor y aliento constante han sido el motor que me impulsa a perseverar y a no rendirme ante los desafíos que se presentan.

A mi padre Hugo por estar a mi lado apoyándome y aconsejándome siempre.

A mis hermanos Marco y Daniel quienes siempre me han brindado el estímulo necesario para continuar avanzando en cada paso; su respaldo ha sido esencial para completar esta Maestría. Gracias por creer en mí, incluso cuando yo misma cuestionaba mis habilidades, y por alentarme a perseverar.

A las Doctoras Lucía Ortega Cabello, Liliana Hernández Vázquez y Aida Hamdan Partida, les expreso mi profundo agradecimiento por sus sabios consejos y orientación en cada etapa de este proceso crucial en mi trayectoria académica. Su enfoque crítico y constructivo me ha permitido crecer como investigadora. Además, su disposición para escuchar mis ideas y brindarme consejos en los momentos difíciles ha sido clave para superar obstáculos y avanzar con confianza en mi trabajo.

Quiero expresar mi gratitud a todos mis compañeros, quienes, muchos de ellos, han llegado a ser mis amigos. Aprecio profundamente las horas que hemos compartido, los proyectos que hemos realizado juntos y las experiencias que hemos vivido, haciendo más ameno el tiempo de estudio.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN 15
2. ANTECEDENTES 17
2.1. ¿Qué es el cáncer? 17
2.1.1. Cáncer cervicouterino 17
2.1.1.1. Línea celular HeLa 18
2.1.1.2. Tratamientos 18
2.2. Nanotecnología 20
2.2.1. Nanopartículas 21
2.2.1.1. Nanopartículas metálicas (*NPsm*) 21
2.2.1.1.1.Caracterización fisicoquímica de nanopartículas de plata. 22
2.2.1.1.1.1.Espectrometría infrarroja con transformada de Fourier 23
2.2.1.1.1.2.Espectrofotometría Ultravioleta-Visible 24
2.2.1.1.1.3.Microscopía Electrónica de Transmisión 25
2.2.1.1.1.4.Potencial Z 25
2.2.1.2. Nanotecnología en el tratamiento de cáncer 26
2.2.1.2.1.Acción de las *AgNPs* en cáncer 27
2.2.1.3. Síntesis de Nanopartículas de plata 28
2.2.1.4. Síntesis de nanopartículas de plata utilizando antioxidantes 29
2.2.1.4.1.Síntesis de nanopartículas metálicas usando antioxidantes de plantas 29
2.2.1.4.2.Síntesis de nanopartículas metálicas usando antioxidantes provenientes de microorganismos 30
2.3. *Actinobacteria* 31
2.3.1. *Actinobacterias* marinas como productoras de antioxidantes 33
2.3.2.1. Suborden *Corynebacterineae* 33
2.3.2.2. Suborden *Streptomycineae* 35
3. JUSTIFICACIÓN 36
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. 37
5. HIPÓTESIS 39
6. OBJETIVOS 39
6.1. General 39
6.2. Particulares 39
7. MATERIALES Y MÉTODOS 40
7.1. Extracción de ADN y secuenciación para caracterización filogenética de *Actinobacterias*. 40

7.2. Fermentación de bacterias para obtención y liofilización de biomasa 40
7.2.1. Evaluación del crecimiento bacteriano por espectrofotometría 41
7.3. Extracción secuencial de metabolitos con disolventes en orden de polaridad creciente. 41
7.3.1. Caracterización preliminar de los metabolitos secundarios mediante cromatografía de capa fina 42
7.4. Tamizaje metabólico 43
7.5. Cuantificación de metabolitos secundarios observados durante el tamizaje metabólico 44
7.6. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos 45
7.6.1. Método basado en el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) 45
7.6.2. Método basado en el radical 2, 2'-Azinobis-3-etil- benzo-tiazolina-6-acido sulfónico (ABTS) 46
7.6.3. Análisis estadístico 46
7.7. Obtención de nanopartículas de plata con extractos bacteriano de *Actinobacterias* aisladas del Golfo de México 47
7.8. Caracterización de las nanopartículas de plata 47
7.8.1. Análisis por espectrofotometría Ultravioleta-Visible 47
7.8.2. Análisis por microscopía electrónica de transmisión 47
7.8.3. Análisis por espectroscopia de infrarrojo (IR) con detección de reflexión total atenuada (ATR) 48
7.9. Cultivo de células HeLa. 48
7.9.1. Ensayos *in vitro* de la actividad anticancerígena de las nanopartículas de plata (*AgNPs*) 48
7.9.2. Análisis estadístico para los tratamientos en células HeLa 49
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 50
8.1. Crecimiento de *Actinobacterias* aisladas del Golfo de México 50
8.2. Extracción de ADN y secuenciación para caracterización filogenética de *Actinobacterias*. 51
8.3. Fermentación de las cepas. 52
8.3.1. Curva de crecimiento 53
8.4. Caracterización de los metabolitos secundarios. 54
8.4.1. Caracterización preliminar 54
8.4.1.1. Extracción de metabolitos secundarios 54
8.4.1.2. Caracterización mediante cromatografía en capa fina 54
8.4.1.2.1. Extracto con hexano 54
8.4.1.2.2. Extracto con acetato de etilo 57

8.4.1.2.3. Extracto con metanol 60
8.4.2. Caracterización de los metabolitos secundarios de la biomasa total. 63
8.5. Tamizaje metabólico 65
8.6. Cuantificación de metabolitos secundarios 66
8.6.1. Taninos totales 66
8.6.2. Flavonoides totales 69
8.6.3. Polifenoles totales 71
8.6.4. Azúcares totales 74
8.6.5. Alcaloides totales 76
8.6.6. Proteínas totales 79
8.7. Actividad antioxidante 81
8.7.1. Método DPPH 81
8.7.1.1. Análisis estadístico 83
8.7.2. Método ABTS 85
8.7.2.1. Análisis estadístico 87
8.8. Reducción del $AgNO_3$ con extractos metanólicos obtenidos de las *Actinobacterias* 90
8.9. Caracterización de las nanopartículas de plata 91
8.9.1. Espectrofotometría Ultravioleta-Visible 91
8.9.2. Análisis por microscopía electrónica de transmisión 92
8.9.2.1. Difracción de electrones 93
8.9.3. Análisis por espectroscopia de infrarrojo (IR) con detección de reflexión total atenuada (ATR) 94
8.10. Ensayo de actividad anticancerígena en células HeLa 97
9. Conclusiones 100
10. Prospectivas 102
11. Referencias 103
12. ANEXO 1 116
13. ANEXO 2. EVENTOS CIENTÍFICOS, CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN Y PUBLICACIONES CIENTÍFICAS 131
13.1. 1er Simposio Internacional de Calidad en Farmacia y Medicina Social 132
13.2. Avances de las mujeres en la ciencia 133
13.3. Participación en conferencias en IPN Zacatenco 135
13.4. Participación en las reuniones semanales de la asociación DiVU para la población LGBTI+… 136
13.5. Primera Semana CON-CIENCIA 2023 138
13.6. V congreso de investigadoras del SNI y de Iberoamérica 141

13.7. Publicación de Articulo Científico 143

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

$ABTS^+$: Radical 2, 2'-Azinobis-3-etil- benzo-tiazolina-6-acido sulfónico

$AgNO_3$: Nitrato de plata

AgNPs: Nanopartículas de plata

***AgNPs* (Joc-8):** Nanopartículas de plata sintetizadas con el extracto de *Dietzia Maris* (Joc-8)

***AgNPs* (*N. Corallina*)**: Nanopartículas de plata sintetizadas con el extracto de *Nocardia Corallina* (*N. Corallina*)

AuNPs: Nanopartículas de oro

BHI: Agar de infusión de cerebro y corazón

Bottom-up: Síntesis de abajo hacia arriba

BSA: Albúmina de suero bovina

CCF: Cromatografía en capa fina

CCU: Cáncer cervicouterino

CH_3COOH: Ácido acético

CisPt: Cisplatino

CO_2: Dióxido de carbono

DMEM: Medio Eagle Modificado por Dulbecco

DMSO: Dimetilsulfóxido

DPPH: Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

$FeCl_3$: Tricloruro de Hierro

FT-IR: Espectrometría Infrarroja con transformada de Fourier

H_2O: Agua

H_2SO_4: Ácido sulfúrico

$HAuCl_4$: Ácido cloroáurico

HPLC: Cromatografía de líquidos de alta resolución

JNK: Familia de las quinasas

Joc-8: *Dietzia maris*

Joc-9: *Dietzia maris*

KOH: Hidróxido de potasio

N. corallina: *Nocardia corallina*

$Na_3C_6H_5O_7$: Citrato de sodio

$NaBH_4$: Borohidruro de sodio

NaOH: Hidróxido de sodio

NCBI: Centro Nacional para la Información Biotecnológica

NPs: Nanopartículas

NPsm: Nanopartículas metálicas

$Pb\ (OAc)_4$: Acetato de plomo

PBS: Solución amortiguadora de fosfatos

TEM: Microscopía Electrónica de Transmisión por sus siglas en ingles.

Top-down: Síntesis de arriba hacia abajo

UV-Vis: Ultravioleta-Visible

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estadios del cáncer cervicouterino (CCU) (Tomada de Torné, 2020). 17
Figura 2. Métodos de síntesis “top-down” (de arriba hacia abajo) y “bottom-up” (de abajo hacia arriba) 22
Figura 3. Espectro de absorción Uv-Vis de *AgNPs* 24
Figura 4. Mecanismo de acción de nanopartículas de plata en células cancerosas 28
Figura 5. Mecanismo de formación de *AgNPs* a través del método químico 28
Figura 6. Proceso de síntesis verde de nanopartículas metálicas 31
Figura 7. Árbol filogenético de *Actinobacteria*, basada en la comparación de las secuencias del ARN ribosómico 16S (Tomada de Gorrín, 2018). 33
Figura 8. Colonias y tinción de Gram de las cepas a) Joc-8, b) Joc-9 y c) *N. corallina.* 51
Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa al 1% con un control (1) de las cepas Joc-8 (2), Joc-9 (3) y *N. corallina* (4). 51
Figura 10. Crecimiento de las cepas Joc-8, Joc-9 y *N. corallina* en 3 mL de caldo BHI. 52
Figura 11. Extracciones de las muestras de *Dietzia maris* (Joc-8) (1), *Dietzia maris* (Joc-9) (2), *Nocardia corallina (N. corallina)* (3) con hexano (H), acetato de etilo (Acet) y metanol (M). 54
Figura 12. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Hexano: acetato de etilo (1) 100%, (2) 95%:5%, (3) 80%:20% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*. 55
Figura 13. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Acetonitrilo: agua (1) 100%, (2) 80%:20%, (3) 70%:30% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*. 56
Figura 14. Cromatoplacas reveladas con $FeCl_3$ 10% (compuestos fenólicos), Vainillina sulfúrica (saponinas), NaOH 10% (antraquinonas), KOH 10% (cumarinas), DPPH (actividad antioxidante, Dragendoff (alcaloides) y Liebermann-burchard (terpenoides y/o esteroides). 57
Figura 15. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Hexano: acetato de etilo (1) 100%, (2) 95%:5%, (3) 80%:20% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*. 58
Figura 16. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Acetonitrilo: agua (1) 100%, (2) 80%:20%, (3) 70%:30% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*. 59
Figura 17. Cromatoplacas reveladas con $FeCl_3$ 10% (compuestos fenólicos), Vainillina sulfúrica (saponinas), NaOH 10% (antraquinonas), KOH 10% (cumarinas), DPPH (actividad antioxidante, Dragendoff (alcaloides) y Liebermann-burchard (terpenoides y/o esteroides). 60
Figura 18. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Hexano: acetato de etilo (1) 100%, (2) 95%:5%, (3) 80%:20% y (4) 50%:50%.

Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*. 61
Figura 19. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Acetonitrilo: agua (1) 100%, (2) 80%:20%, (3) 70%:30% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*. 62
Figura 20. Cromatoplacas reveladas con $FeCl_3$ 10% (compuestos fenólicos), Vainillina sulfúrica (saponinas), NaOH 10% (antraquinonas), KOH 10% (cumarinas), DPPH (actividad antioxidante, Dragendoff (alcaloides) y Liebermann-burchard (terpenoides y/o esteroides). 63
Figura 21. Cromatoplacas reveladas lampara UV y sulfato cérico en fase móvil Acetonitrilo: agua 70%:30%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*..... 64
Figura 22. Cromatoplacas reveladas con $FeCl_3$ 10% (compuestos fenólicos), Vainillina sulfúrica (saponinas), NaOH 10% (antraquinonas), KOH 10% (cumarinas), DPPH (actividad antioxidante, Dragendoff (alcaloides) y Liebermann-burchard (terpenoides y/o esteroides). 65
Figura 23. Reacción de reducción del nitrato de plata con extracto metanólico de *Dietzia maris* Joc-8 (1a) antes de la reacción, (1b) después de la reacción; Joc-9 *Dietzia maris* (2a) antes de la reacción, (2b) después de la rección; NC *Nocardia corallina* (3a) antes de la reacción, (3b) después de la reacción. 91
Figura 24. Nanopartículas de plata obtenidas con el ex*tracto metanólico de Dietzia maris* (Joc-8) con una morfología homogénea predominantemente esférica, visualizadas por TEM campo claro. 92
Figura 26. Imperfección superficial cristalino Macla..... 93
Figura 25. Nanopartículas de plata obtenidas con el extracto metanólico de *Nocardia corallina* (*N. corallina*) con una morfología homogénea predominantemente esférica, visualizadas por TEM campo claro. En cuanto a la figura (b) se muestran defectos superficiales llamadas maclas. 93
Figura 27. Patrones de difracción de electrones representativas de las nanopartículas obtenidas con el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) (25a) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) (25b)..... 94
Figura 28. Espectro obtenido mediante IR-ATR del control nitrato de plata (a), las *AgNPs* obtenidas mediante el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) (b) y las *AgNPs* obtenidas mediante el extracto metanólico de *Nocardia corallina* (*N. corallina*) (c). 96
Figura 29. Electroferograma gen 16S ADNr cepa *Dietzia maris* (Joc-8). 116
Figura 30. Electroferograma gen 16S ADNr cepa *Dietzia maris* (Joc-9). 117
Figura 31. Electroferograma gen 16S ADNr cepa *Nocardia corallina* (*N. corallina*). 118

1. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología ha transformado significativamente diversos campos científicos e industriales, destacando su impacto especialmente en la biomedicina y las ciencias farmacéuticas. En estos ámbitos, las nanopartículas metálicas (*NPsm)* adquieren una relevancia fundamental debido a sus propiedades terapéuticas excepcionales. Entre las que destacan actividades como antibacterianas, antivirales, antifúngicas, cicatrizantes y antineoplásicas, convirtiéndolas en herramientas valiosas para el tratamiento de diversas enfermedades. Además, las *NPsm* pueden utilizarse de forma específica para la liberación controlada de fármacos, como se ejemplifica con las nanopartículas de plata (*AgNPs)* (Sánchez, et al, 2009; Gómez, s.f.). La plata ha sido históricamente utilizada en el tratamiento de infecciones y, más recientemente, se ha investigado su potencial anticancerígeno. Un ejemplo relevante de esto se encuentra en su aplicación contra el cáncer cervicouterino, donde se ha observado que la plata reduce la proliferación de células cancerosas y desencadena la apoptosis celular. Cabe destacar que este efecto beneficioso se logra sin manifestar efectos tóxicos sobre las células sanas ni afectar el sistema inmunológico (Morales, et al,2009; Beato, 2021).

Dichas *AgNPs* se pueden sintetizar por métodos químicos; sin embargo, la generación de residuos tóxicos, así como la dificultad para alcanzar las condiciones necesarias para realizar la reacción de reducción del precursor metálico han llevado a la necesidad de buscar métodos alternativos de síntesis (Martínez, 2013). Considerando lo expuesto, se ha investigado recientemente el empleo de antioxidantes extraídos principalmente de plantas y microorganismos, con el fin de reducir sales de plata. Este enfoque se ha destacado debido a las propiedades oxidoreductoras de dichos antioxidantes, convirtiéndose en un método propicio para la síntesis de *AgNPs* (Pereyra, et al, 2018). El uso de estos antioxidantes no solo elimina la necesidad de agentes reductores químicos, que a menudo son costosos y tóxicos, sino que también ofrece un método más económico y ecológico con el medio ambiente (Zarate, 2019).

Los microorganismos debido a sus mecanismos metabólicos de adaptación que desarrollan en condiciones desfavorables para su crecimiento poseen la capacidad de sintetizar metabolitos secundarios con propiedades antioxidantes (Zarate, 2019; Abril, 2022). Las *Actinobacterias*, especialmente las de origen marino, son destacados productores de metabolitos secundarios con relevancia farmacéutica, considerándose fuentes novedosas de compuestos antioxidantes. En investigaciones anteriores, se evaluó la actividad antioxidante en extractos de diversas polaridades obtenidos de *Actinobacterias* marinas, específicamente del suborden *Corynebacterineae*, aisladas en el Golfo de México. Este análisis se realizó utilizando el método basado en el Radical

2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), acoplado a cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés), evidenciando la presencia de pigmentos como carotenoides y otros metabolitos con propiedades antioxidantes (Zarate, 2019; Ortega et al, 2016). Recientemente, se ha establecido la capacidad de las *Actinobacterias* pertenecientes a las familias *Nocardiaceae* y *Dietziaceae* para llevar a cabo la síntesis de *AgNPs.* Este fenómeno se atribuye a las reacciones oxido-reducción de compuestos como flavonoides, taninos, carbohidratos, cumarinas y proteínas, que estas *Actinobacterias* son capaces de sintetizar (Abril, 2022). En el contexto de esta investigación, se demostró que los antioxidantes extraídos de *Actinobacterias* marinas aisladas en el Golfo de México pudieron ser empleados en la biosíntesis de *AgNPs*. Además, se evaluó la actividad anticancerígena de estas nanopartículas en células HeLa.

2. ANTECEDENTES

2.1. ¿Qué es el cáncer?

El cáncer es una enfermedad caracterizada por el daño en algunas células del cuerpo, las cuales proliferan sin control y se propagan a otras áreas del organismo. Estas células pueden dar origen a tumores, que son acumulaciones anómalas de tejido que se forman y se multiplican cuando no deberían. Estos tumores pueden invadir los tejidos circundantes y, en algunos casos, desplazarse a lugares distantes del cuerpo, dando lugar al proceso conocido como metástasis. Los tumores cancerosos son comúnmente denominados tumores malignos (¿Qué es el cáncer?,2021).

2.1.1. Cáncer cervicouterino

El cáncer de cuello uterino es una neoplasia que se origina en las células del cuello del útero, también conocido como cáncer de cérvix o cáncer cervicouterino (CCU). El cuello uterino es la sección final, inferior y estrecha del útero, que conecta este órgano con la vagina, el canal del parto. La enfermedad puede manifestarse en diversos estadios, que varían según la extensión de las células cancerosas, como se ilustra en la Figura 1 (Torné, et al, 2020).

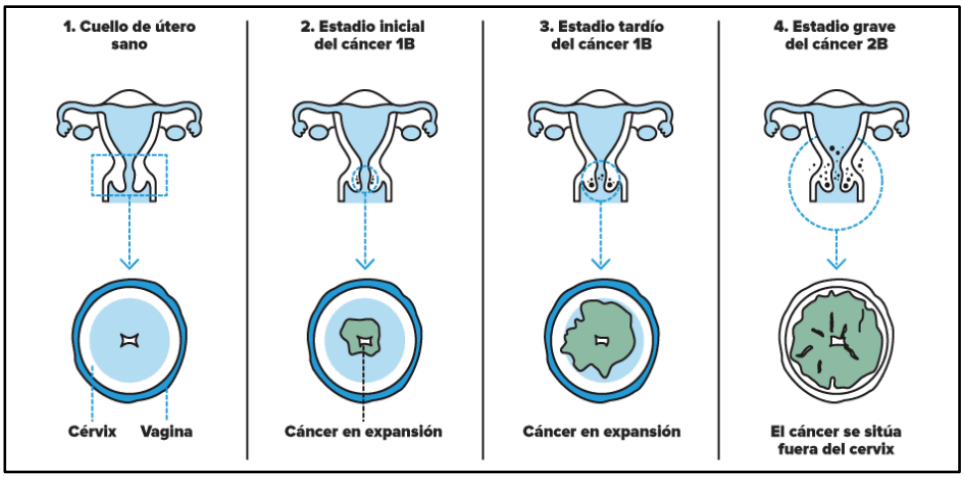


Figura 1. Estadios del cáncer cervicouterino (CCU) (Tomada de Torné, 2020).

Previo a la formación de este tipo de cáncer, las células en el cuello del útero experimentan cambios denominados displasia, transformándose en células anormales dentro del tejido cervical. Con el tiempo, si estas células anormales no son eliminadas o extirpadas, existe la posibilidad de que se vuelvan cancerosas, llevando a una proliferación y diseminación hacia capas más profundas del cuello uterino y áreas circundantes (¿Qué es el cáncer de cuello uterino?, 2023).

El CCU representa un problema de salud significativo a nivel mundial y es una de las

enfermedades con mayor tasa de mortalidad entre mujeres en países en desarrollo. La detección y prevención del CCU son consideradas más accesibles en comparación con otros tipos de cáncer, dado que su desarrollo es gradual y permite implementar medidas eficaces en fases tempranas (¿Qué es el cáncer de cuello uterino?, 2023). Hasta el año 2017, se observaba una tendencia decreciente en los casos de cáncer cervicouterino. Sin embargo, a partir de 2018, se evidenció un aumento significativo. A nivel mundial, se estima que en 2021 se registraron aproximadamente 604,000 nuevos casos y 342,000 fallecimientos, siendo el cuarto cáncer más común y la cuarta causa de muerte en mujeres. En México, el cáncer cervicouterino se situó como el segundo más diagnosticado y la segunda causa de muerte en mujeres durante el mismo año, con tasas de incidencia y mortalidad de 12.6 y 5.7 por cada 100,000 habitantes, respectivamente. En los registros hospitalarios, el cáncer cervicouterino figura como la séptima causa de mayor interés para los médicos, con alrededor de 577 casos actualmente (Cáncer cervicouterino, 2023).

2.1.1.1. Línea celular HeLa

Las células HeLa, originadas en 1951 con las células cancerosas del cuello uterino de Henrietta Lacks, representan una pieza fundamental en la investigación del cáncer. Desde entonces, estas células han extendido su presencia globalmente, convirtiéndose en la referencia experimental de laboratorio predominante para la investigación del cáncer, a pesar del desarrollo de líneas celulares derivadas de diversos tipos de esta enfermedad (Masters, 2002). Las muestras de su biopsia, cultivadas por primera vez por el Dr. George Gey, dieron origen a las células HeLa, reconocidas por su notable capacidad de resistencia y proliferación (La célula inmortal, 2016).

2.1.1.2. Tratamientos

El tratamiento del CCU varía según el estadio de la enfermedad. En algunos casos, el objetivo es lograr la remisión completa de la enfermedad, mientras que, en otros, se busca detener su progresión. Los enfoques de tratamiento incluyen:

- Cirugía o cono cervical: Este procedimiento implica el corte y la extirpación del tejido afectado con células cancerosas, principalmente para estadio inicial 1B.
- Histerectomía: En esta intervención quirúrgica puede ser parcial, total o radical; se realiza la extracción del útero, siendo una opción para tratar el CCU al remover el cuello del útero y, en ocasiones, otras estructuras circundantes, principalmente para estadios tardío 1B y grave 2B.
- Radioterapia: Se emplea radiación, como los rayos X de alta energía, para destruir

células cancerosas o prevenir su proliferación al dañar su material genético (ADN) principalmente para estadio tardío 1B.

- Quimioterapia: Se refiere al uso de medicamentos específicos diseñados para disminuir o eliminar las células cancerosas, principalmente para estadio tardio1B. Este tratamiento se divide en dos mecanismos principales. En primer lugar, la terapia dirigida utiliza medicamentos y otras sustancias para bloquear la acción de enzimas específicas, proteínas y otras moléculas que intervienen en la multiplicación y diseminación de las células cancerosas. Para tratar el CCU, se utilizan medicamentos de terapia dirigida como el bevacizumab y el tisotumab vedotina. Además, varios agentes antineoplásicos también pertenecen a esta categoría. Por ejemplo, los inhibidores de la tirosina quinasa, como el imatinib y el erlotinib, son terapias dirigidas que bloquean las señales de crecimiento de las células cancerosas al interferir con las tirosina quinasas (Cáncer cervicouterino, 2023). El segundo mecanismo, denominado inmunoterapia, es un tratamiento que trabaja en conjunto con el sistema inmunológico del cuerpo para ayudar a combatir las células cancerosas o controlar los efectos secundarios de otros tratamientos contra el cáncer. Entre los medicamentos de inmunoterapia utilizados para tratar el cáncer cervicouterino se encuentran los inhibidores de los puntos de control inmunológicos, como el pembrolizumab y el nivolumab (¿Qué es el cáncer de cuello uterino?, 2023). La elección entre terapia dirigida e inmunoterapia para el tratamiento del cáncer depende en gran medida del estadio de la enfermedad. En etapas avanzadas, cuando el cáncer se ha diseminado, la decisión puede verse influenciada por la extensión de la enfermedad y su resecabilidad (Cáncer cervicouterino, 2023; Medrano, 2022).

  En México, se encuentran fármacos dentro del cuadro básico que están relacionados con tasas de respuesta objetiva en el tratamiento del cáncer cervicouterino; no obstante, las respuestas suelen ser de corta duración. A continuación, se detallan los fármacos utilizados en el tratamiento del cáncer en estadio 2B y sus respectivas tasas de respuesta:

  - Paclitaxel/cisplatino 46%
  - Cisplatino/gemcitabina 41%
  - Ifosfamida 31%
  - Cisplatino/Topotecán 27% (Tratamiento del cáncer cervicouterino En segundo y tercer nivel de atención, 2017)

Además de los tratamientos convencionales para el CCU, como la cirugía, la radiación

y la quimioterapia, que afectan tanto a las células cancerosas como a las células sanas, estos procedimientos a menudo generan efectos secundarios no deseados, como náuseas, vómitos, pérdida de cabello e infecciones. A pesar de estos inconvenientes, no se garantiza una cura segura (Medrano, 2022; Quimioterapia para cáncer de cuello uterino, 2023). En este contexto, surge como alternativa la aplicación de la nanotecnología, destacándose por su capacidad para dirigirse de manera específica a las células cancerosas. Este enfoque permite prevenir el daño a las células sanas, reduciendo así los efectos secundarios adversos. La nanotecnología logra esto mediante el uso de nanopartículas diseñadas para reconocer y unirse selectivamente a las células cancerosas. Cabe resaltar que estas nanopartículas destinadas a atacar las células cancerosas facilitan la detección temprana de los tumores en las exploraciones, incluso en las fases iniciales del desarrollo de la enfermedad. Dado que el diagnóstico temprano es crucial para la efectividad del tratamiento del cáncer, este avance representa un paso significativo en la lucha contra esta enfermedad (Quimioterapia para cáncer de cuello uterino, 2023).

2.2. Nanotecnología

La nanotecnología, es un término derivado del griego y compuesto por tres partes: "*nanos*" (enano o una milmillonésima parte de algo), "*techne*" (técnica o habilidad), y "*logía*" (estudio), se define como el estudio y manejo de materiales a una escala nanométrica. Además, abarca la producción y aplicación de estructuras y sistemas a escala nanométrica mediante el control preciso de la forma y tamaño de materiales en un intervalo de tamaño entre 1 y 100 nanómetros (Cardoso, 2016). En el ámbito médico, se han llevado a cabo numerosas investigaciones en relación con la nanotecnología, enfocadas en su aplicación para el diagnóstico, tratamiento y monitoreo de enfermedades, lo que ha propiciado el surgimiento de la nanomedicina (Sánchez, et al, 2009). Esta rama de la nanotecnología ha transformado varios campos científicos e industriales mediante el desarrollo de herramientas para la caracterización y manipulación de estructuras a nanoescala, como los microscopios electrónicos de transmisión y de barrido, la microscopía de fuerza atómica, así como el descubrimiento de nuevos materiales, incluyendo fullerenos, nanotubos de carbono y nanopartículas metálicas (Bautista, 2019). La materia a escala nanométrica exhibe propiedades diferentes debido a su alta energía superficial y al mayor número de átomos en la superficie. A medida que una partícula se hace más pequeña, la proporción de átomos en la superficie aumenta (Gómez, s.f.).

2.2.1. Nanopartículas

Las nanopartículas (NPs) se definen como partículas sólidas con un tamaño que varía entre 1 y 100 nm (Mohanraj, 2006). Una nanopartícula es una partícula de tamaño nanométrico, tan pequeño que no es visible al ojo humano y debe ser observada con un microscopio. El uso de NPs presenta una gran oportunidad para el transporte de fármacos, mejorando la selectividad del tratamiento. Esto puede resultar en una eficacia en solo segundos, en contraste con los fármacos en formas farmacéuticas convencionales, que pueden tardar entre 10 y 15 minutos en hacer efecto (Dirección General de Divulgación de la Ciencia, UNAM, 2019). Las *NPsm* gozan de propiedades fascinantes con aplicaciones en varios campos tecnológicos de la medicina, óptica, biotecnología y electrónica entre otras (Mohanraj, 2006).

2.2.1.1. Nanopartículas metálicas (*NPsm*)

En el caso de las nanopartículas metálicas (*NPsm*), especialmente las de plata (*AgNPs*) y oro (*AuNPs*), se destacan por poseer propiedades ópticas y eléctricas singulares. Estas partículas exhiben una oscilación electrónica conocida como resonancia de plasmón de superficie localizada (Cardoso, P., 2016). Este fenómeno, conocido como una tecnología de detección óptica, permite monitorear en tiempo real las interacciones de unión entre dos o más moléculas sin la necesidad de etiquetas. Además, han sido reportadas con aplicaciones en el área médica para el tratamiento de enfermedades y como agentes antimicrobianos (Mohanraj, 2006). Se han desarrollado varios métodos de síntesis, tanto químicos como físicos, para obtener *AgNPs* y *AuNPs*. Estos métodos permiten controlar su tamaño, forma, composición y su comportamiento frente a diversos estímulos, como la radiación electromagnética o la reactividad química, entre otros (Gutiérrez, 2021). En general, la síntesis química de *NPsm* se realiza utilizando un precursor metálico, un agente reductor y un agente estabilizante. El tamaño y la forma de las NPs dependen de las velocidades relativas de los procesos involucrados, que pueden ser controladas ajustando los parámetros de reacción como la concentración, temperatura, pH y el poder reductor, entre otros. Las *NPsm* pueden sintetizarse principalmente mediante dos métodos: (a) el método físico conocido en inglés como "top-down", que implica la subdivisión mecánica del metal, y (b) el método químico llamado "bottom-up", que comprende la nucleación y el crecimiento de las partículas a partir de átomos metálicos, como se muestra en la Figura 2 (Monge, 2009).

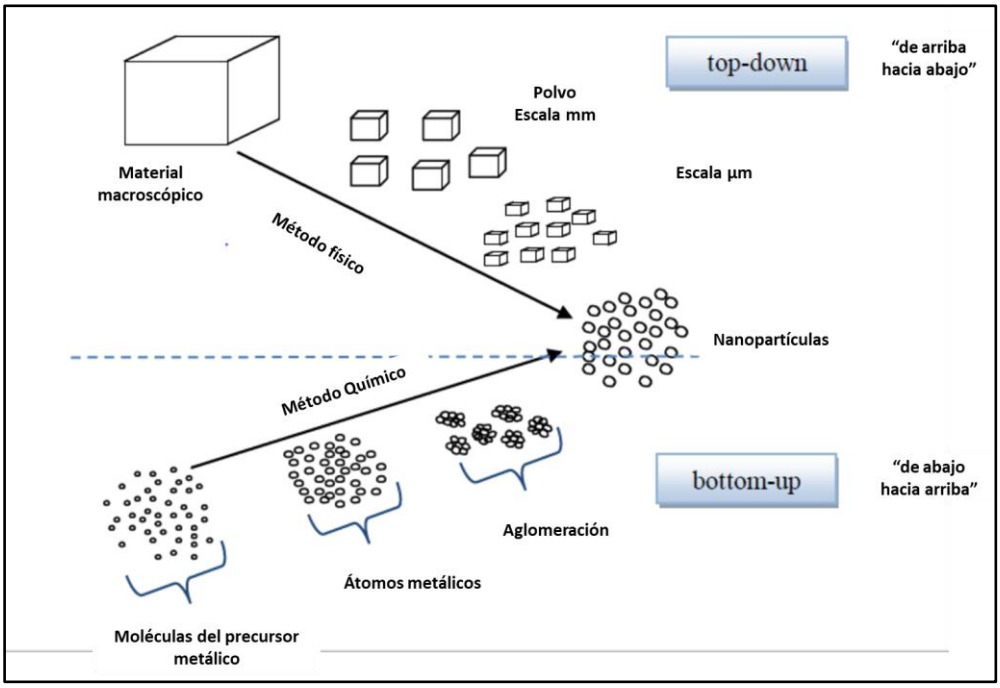


Figura 2. Métodos de síntesis "top-down" (de arriba hacia abajo) y "bottom-up" (de abajo hacia arriba) (Tomada de Sánchez, 2017).

Las *AuNPs* y *AgNPs* destacan por su baja toxicidad y la posibilidad de obtenerse a través de síntesis verde. Sin embargo, las *AgNPs* son especialmente destacadas debido a sus excelentes propiedades antivirales contra virus como el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus de la influenza A caracterizado por dos proteínas clave en su superficie: la hemaglutinina (H) y la neuraminidasa (N) (H1N1). Además de su actividad antibacteriana, también demuestran eficacia contra hongos y protozoos (Vera, et al, 2023).

2.2.1.1.1. Caracterización fisicoquímica de nanopartículas de plata.

La caracterización de las *AgNPs* es una fase crucial para comprender y controlar tanto su síntesis como sus futuras aplicaciones. Este proceso se realiza mediante diversas técnicas instrumentales, como la espectrofotometría de absorción UV-Visible (UV-Vis), la microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en ingles) y la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en ingles), entre otras. Estas técnicas permiten obtener datos sobre varios parámetros, como la composición, estructura, topología y morfología. Este conocimiento se logra a través de la interpretación de la interacción de señales, ya sean eléctricas, luminosas, térmicas, u otras, con una porción específica del material sujeto a caracterización (Sánchez, 2017).

2.2.1.1.1.1. Espectrometría infrarroja con transformada de Fourier

El espectro electromagnético juega un papel fundamental en el análisis químico, y la técnica de FTIR se destaca por su valor en la detección de grupos químicos orgánicos presentes en los metabolitos secundarios. Esta metodología se basa en la interacción de la radiación infrarroja con la materia, proporcionando información detallada y precisa sobre la estructura molecular. La espectroscopía infrarroja (IR) mide la absorción inducida por las vibraciones y movimientos de grupos químicos específicos en la región del espectro infrarrojo. El espectro de IR abarca desde 12,500 cm^{-1} hasta 100 cm^{-1} y se divide en tres regiones según su longitud de onda: lejano, medio y cercano. Para el análisis instrumental, se utiliza principalmente la región media del espectro infrarrojo (4000-500 cm^{-1}) porque en este intervalo las moléculas, especialmente las orgánicas, muestran absorciones y vibraciones específicas. Esto se debe a que cada enlace produce diferentes energías a través de varios movimientos, como aleteo, estiramiento, tijereteo y doblamiento (Quizhpe, 2022).

En el ámbito de las *AgNPs*, su aplicación principal se centra en la identificación de especies químicas vinculadas a la superficie y el estudio de reacciones de oxidación en su interfaz (Sánchez, 2017). Especialmente en la determinación de los grupos funcionales de carácter orgánico presentes en el extracto y en las nanopartículas de plata sintetizadas; esta técnica permite identificar enlaces químicos mediante espectros IR característicos de los metabolitos secundarios, como los compuestos fenólicos. Estos compuestos son responsables de la reducción de los iones de plata y, por lo tanto, de la formación de las *AgNPs* (Zea, et al, 2019).

La caracterización de las *AgNPs* es crucial, y la espectroscopía infrarroja permite identificar el ion de plata, que aparece en una banda cercana a 1357 cm^{-1}, así como la presencia de varios grupos funcionales. Estos grupos funcionales podrían estar asociados a diversos metabolitos residuales de la síntesis, como ácidos grasos, lípidos o residuos del medio de cultivo (Escobar, 2015). Principalmente en bandas a 3240 cm^{-1} correspondiente al estiramiento O-H característico de compuestos fenólicos y alcoholes; igualmente una señal de estiramiento en 2921 cm^{-1} correspondiente a enlace químico C-H con hibridación sp^2 y CH_3 de las cadenas carbonadas, así como grupos alifáticos. Asimismo, la aparición en 1631 cm^{-1} correspondientes en enlaces C-C; por otro lado, en 1587 cm^{-1} se puede obtener una banda característica de enlaces C=C correspondientes a grupos aromáticos y/o alquenos (Bustos, 2023). Asimismo, la aparición de una banda intensa en el intervalo de 1650-1750 cm^{-1} corresponde al estiramiento del grupo C=O. Además, en 1351 cm^{-1} se observa una banda de

estiramiento C-O de grupos fenoles y alcoholes terciarios, y en 1030 cm^{-1} se presenta una banda de estiramiento C-O de grupos fenoles. Finalmente, las bandas a 879 y 723 cm^{-1} corresponden a los grupos -CH y -OH, respectivamente (Zea, et al, 2019).

Los equipos modernos están equipados con sistemas que convierten las señales captadas (interferograma) en porcentaje de transmitancia mediante el uso de la transformada de Fourier (Skoog, et al, 1971).

2.2.1.1.1.2. Espectrofotometría Ultravioleta-Visible

La espectrofotometría UV-Vis es una de las técnicas más ampliamente utilizadas para la caracterización primaria de las nanopartículas sintetizadas. Además, es efectiva para monitorear tanto la síntesis como la estabilidad de las *AgNPs*. Esta técnica se destaca por su rapidez, simplicidad y aplicabilidad a diversos tipos de nanopartículas. Su principio se basa en la absorción de radiación ultravioleta y visible por el analito, lo que genera un estado excitado que posteriormente libera su exceso de energía en forma de calor. Como se mencionó anteriormente, las *AgNPs* tienen propiedades ópticas que les permiten interactuar significativamente con longitudes de onda específicas de la luz. La espectrofotometría UV-Vis es altamente sensible a la presencia de coloides de plata, ya que estas nanopartículas exhiben un pico de absorción pronunciado debido a la excitación de plasmones superficiales (Vera, et al, 2023).

Esta técnica despliega su eficacia en la caracterización de *AgNPs*, ya que la presencia de bandas de absorción en el espectro, especialmente entre longitudes de onda de 350 a 500 nm, señala la existencia de estas partículas metálicas (De la llana, 2018). De acuerdo con la Figura 3 se observa que la longitud de onda cambia dependiendo del tamaño de la nanopartícula.

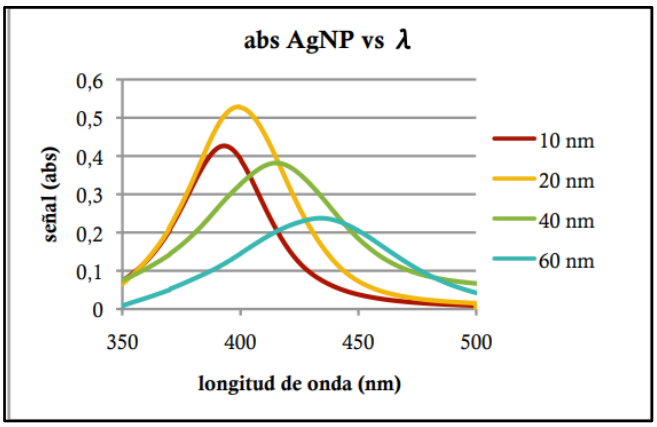


Figura 3. Espectro de absorción Uv-Vis de *AgNPs* (Tomada de De la llana, 2018).

2.2.1.1.1.3. Microscopía Electrónica de Transmisión

La microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) es una técnica esencial para la caracterización estructural completa de las *AgNPs*, proporcionando imágenes detalladas sobre su tamaño, morfología y estado de agregación. (Universitat d'Alacant, 2022). A diferencia de la microscopía óptica, que utiliza luz para aumentar objetos hasta 100 veces su tamaño, la TEM emplea un haz de electrones de alta energía (80-300 keV) con una longitud de onda entre 0.001 y 0.1 nm. En este proceso, los electrones atraviesan una capa extremadamente delgada de la muestra, generando electrones transmitidos, dispersos e interactuando de diversas formas, como la emisión de luz, electrones secundarios y rayos X, entre otros. La transmisión y dispersión de electrones se utiliza para formar imágenes, mientras que la emisión de rayos X característicos revela la composición elemental de las muestras. El microscopio puede producir dos tipos de imágenes: de campo claro y de campo oscuro. Las imágenes de campo claro se obtienen a partir de electrones que atraviesan la muestra, mientras que las imágenes de campo oscuro se forman a partir de electrones difractados, lo que facilita una visualización más detallada de la superficie debido a la mayor resolución de los electrones dispersados. Además, esta tecnología permite el análisis del patrón de difracción de electrones, único para cada elemento, facilitando la caracterización de la composición del analito. En investigaciones alimentarias, como el análisis morfológico y dimensionamiento de nanoestructuras como almidones y micelas de caseína, el TEM de campo claro se utiliza ampliamente (Escobar, 2015). Esta técnica permite analizar la morfología de la superficie de materiales como las *AgNPs*, mostrándola en imágenes de campo claro y campo oscuro para ofrecer una representación precisa de su forma. Además, proporciona información sobre la composición elemental mediante la obtención de patrones de difracción (Universitat d'Alacant, 2022). Para la preparación de la muestra para su observación en TEM, es necesario dispersar las *AgNPs* en un disolvente y luego dejarlas secar sobre una rejilla de cobre que ha sido recubierta previamente con colodión y una capa de carbono. Esta técnica exige una preparación meticulosa de la muestra para asegurar resultados óptimos (Vera, 2023).

2.2.1.1.1.4. Potencial Z

El potencial Z refleja la carga de una partícula en una solución, lo que facilita la evaluación de su estabilidad (Betancur, 2012). El potencial zeta constituye una medida de la carga eléctrica efectiva en la superficie de una nanopartícula y sirve para cuantificar la estabilidad de carga de las partículas coloidales. En el caso de una

nanopartícula con carga superficial neta, dicha carga se distribuye a través de una concentración más elevada de iones con carga opuesta en las proximidades de su superficie. Este fenómeno da lugar a la formación de una doble capa eléctrica, compuesta por la capa de carga superficial y los iones de carga opuesta, que se desplaza junto con la nanopartícula. El potencial zeta, en esencia, representa la diferencia de potencial entre la capa de fluido que alberga iones con carga opuesta y el fluido a granel en el cual la partícula se encuentra suspendida. Las partículas con un potencial zeta negativo tienden a asociarse con superficies cargadas positivamente, y viceversa. La magnitud del potencial zeta proporciona información crucial sobre la estabilidad de las partículas, donde una mayor magnitud indica una estabilidad superior gracias a una repulsión electrostática más intensa. En resumen, el potencial zeta es una herramienta valiosa para evaluar y comprender la estabilidad electrostática de las nanopartículas.

- Las partículas altamente inestables con rápida coagulación/floculación se encuentran entre 0 mV y 5 mV. Esto indica que la carga eléctrica en la superficie de las partículas es insuficiente, lo que facilita su acercamiento y agregación.
- Las partículas con estabilidad limitada se encuentran en un intervalo aproximado de 5 mV a 20 mV.
- Las partículas moderadamente estables se encuentran en un intervalo aproximado de 20 mV a 30 mV.
- Las partículas altamente estables están por arriba del intervalo de 30 mV a 40mV (Palomino, 2023; Herrera, et al, 2021; Potencial zeta. (s.f.)).

2.2.1.2. Nanotecnología en el tratamiento de cáncer

La nanotecnología emerge como un campo interdisciplinario prometedor para avanzar en métodos más eficaces de diagnóstico y tratamiento en diversas enfermedades, incluyendo el cáncer. Gracias a las propiedades ópticas, magnéticas y estructurales de las *NPs*, se contempla su aplicación en el desarrollo de enfoques no convencionales para el tratamiento del cáncer (Medrano, 2022).

De acuerdo con Sanchez et. al (2009), se ha desarrollado lo que describen como "el caballo de Troya de la nanotecnología", refiriéndose a los dendrímeros y, especialmente, a las nanopartículas magnéticas recubiertas que presentan una alternativa prometedora para el transporte de medicamentos antineoplásicos directamente a las células tumorales, aumentando su eficacia y reduciendo su toxicidad. Un ejemplo de las nanopartículas metálicas con esta función adecuada para localizar

células tumorales son las de plata. Estas *NPs* se recubren con surfactantes que tienen una parte hidrófila y otra hidrófoba. Una vez que las *NPs* se adhieren a las células cancerosas, se puede inducir su calentamiento mediante un campo magnético de baja intensidad. Este calentamiento destruye las células tumorales sin dañar las células o tejidos sanos circundantes. Estas tecnologías para el tratamiento del cáncer podrían reducir los graves efectos secundarios asociados con la quimioterapia o la radioterapia actuales y representar un avance significativo en la lucha contra esta enfermedad (Cáncer cervicouterino, 2020).

2.2.1.2.1. Acción de las *AgNPs* en cáncer

Las *AgNPs* representan una solución efectiva al combatir células cancerosas sin dañar las células sanas. Pueden inhibir con éxito las células tumorales al promover la apoptosis (ver Figura 4), ya que la mitocondria es el objetivo principal que desencadena la toxicidad de las *AgNPs*. Estas nanopartículas participan en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en ingles) y en la generación de estrés oxidativo (EO) (Coutiño, 2017), el cual provoca cambios en el potencial de la membrana mitocondrial, centro importante de señalización para la muerte celular por apoptosis, ya que se induce la liberación del citocromo C al citosol. Éste provoca la inducción de la caspasa-9 y la caspasa-3 activando la vía intrínseca del proceso de apoptosis mecanismo regulado por muchas vías de señalización, entre ellas la c-Jun quinasa, perteneciente a la familia de las quinasas N terminal (JNK por sus siglas en inglés), activada por mitógenos; por ello, las *AgNPs* también tienen actividad proliferativa. Sin embargo, las quinasas JNK también tienen una función proapoptótica en respuesta al estrés oxidativo celular. La disrupción de la cadena respiratoria mitocondrial por las *AgNPs*, junto con la producción de ROS y la interrupción de la producción de ATP, está relacionada con el daño al ADN y la genotoxicidad. A pesar de esto, las *AgNPs* no muestran efectos tóxicos sobre células sanas o el sistema inmunológico, lo que sugiere que podrían ser una opción viable para el tratamiento de esta enfermedad (González, 2006; Espinosa, 2018).

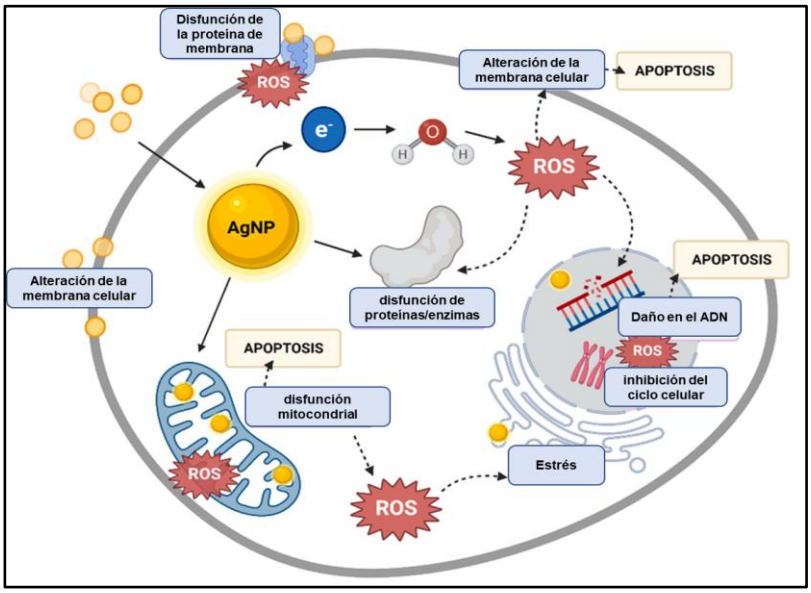


Figura 4. Mecanismo de acción de nanopartículas de plata en células cancerosas (Tomada de Linamaría, 2010).

2.2.1.3. Síntesis de Nanopartículas de plata

La formación de *AgNPs* se lleva a cabo principalmente mediante métodos químicos, en los cuales se utiliza un precursor metálico que, al combinarse con un agente reductor, da lugar a una disolución coloidal con átomos metálicos, a partir de la reducción de los iones de plata. Posteriormente este proceso pasa por dos etapas principales: nucleación y crecimiento. La nucleación requiere una alta energía de activación, mientras que el crecimiento demanda una energía de activación más baja (ver Figura 5) (Sánchez, 2017). Los primeros métodos descritos son el método Lee-Meisel y el método Creighton.

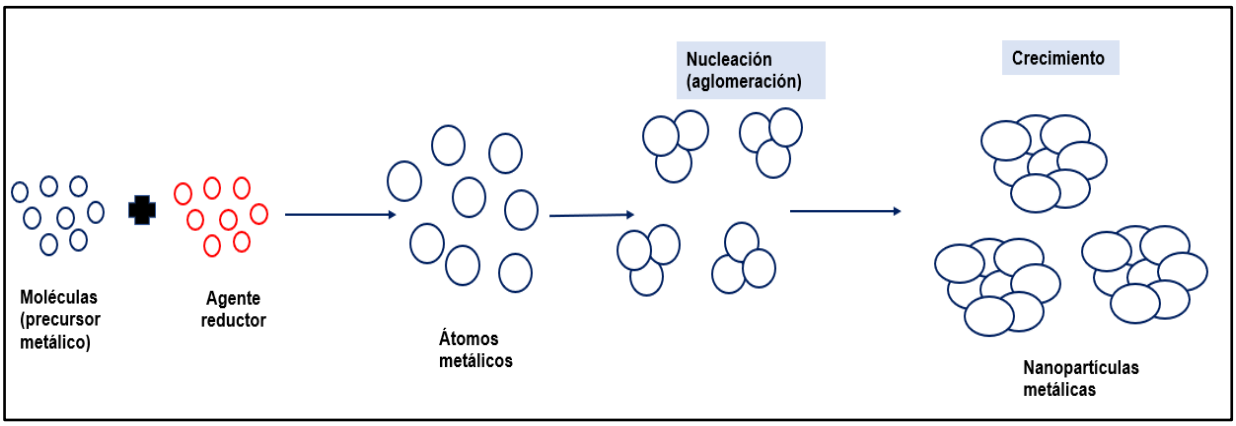


Figura 5. Mecanismo de formación de *AgNPs* a través del método químico. (Elaboración propia)

El primero de estos métodos es una modificación del método Turkevich para la síntesis *AgNPs*, en el que se usa nitrato de plata ($AgNO_3$) en lugar de ácido cloroáurico ($HAuCl_4$) como precursor metálico y citrato de sodio ($Na_3C_6H_5O_7$) como agente reductor. Este

procedimiento da lugar a nanopartículas de plata con una amplia gama de tamaños, que varían entre 20 y 60 nm. El método Creighton consiste en la reacción entre el $AgNO_3$ y el borohidruro de sodio ($NaBH_4$) como agente reductor. Este procedimiento, actualmente el más utilizado, produce nanopartículas de plata de aproximadamente 10 nm con una distribución de tamaños muy uniforme (monodispersas) (Gutiérrez, 2021).

El método químico permite un buen control sobre el tamaño y la reproducibilidad de las nanopartículas, pero utiliza materiales tóxicos, como disolventes, surfactantes y agentes reductores como el $NaBH_4$, que pueden tener impactos negativos en el medio ambiente. Por ello, la síntesis verde se presenta como una alternativa importante, ya que busca producir *AgNPs* de manera más ecológica con el entorno (Betancur, et al, 2012), donde una de estas síntesis es con el uso de antioxidantes los cuales actúan como agentes reductores de $AgNO_3$ (Gutiérrez, 2021).

2.2.1.4. Síntesis de nanopartículas de plata utilizando antioxidantes

Uno de los métodos más sencillos como se mencionó anteriormente para preparar *AgNPs* es la reducción química, donde una sal de plata es reducida en presencia de un agente químico. En este proceso, se forman átomos que actúan como centros de nucleación, generando agrupaciones de átomos de mayor tamaño y formas poliédricas más complejas. Para prevenir la coalescencia, es crucial añadir un agente estabilizante como almidón, surfactantes o polímeros que se adhieren a la superficie de las nanopartículas. Sin embargo, muchos efectos adversos, como intoxicación y alteraciones en la respuesta inmunológica han sido vinculados a las sustancias tóxicas que se absorben en la superficie de las *AgNPs* obtenidas por métodos químicos y físicos, además del uso de disolventes y surfactantes tóxicos (Gómez, 2018; Esquivel 2020). Por esta razón, se ha intensificado la búsqueda de métodos alternativos para la síntesis de nanopartículas que minimicen estos impactos negativos en el medio ambiente. Actualmente se ha optado por realizar síntesis biológica utilizando metabolitos secundarios con esta actividad presentes en plantas y microorganismo como agente reductor (Zarate, 2019).

2.2.1.4.1. Síntesis de nanopartículas metálicas usando antioxidantes de plantas

El interés por encontrar antioxidantes naturales está en aumento. En muchos casos, la capacidad antioxidante de las plantas se debe en gran medida a los compuestos fenólicos presentes en ellas (Llacuna, et al, 2012). En algunas plantas conocidas como *Camellia sinensis* y *Punica granatum* se encuentran compuestos que presentan

propiedades antioxidantes, como lo es el ácido gálico, el cual se ha utilizado para obtener nanopartículas de oro y plata a temperatura ambiente (Cardoso, 2016). Por ende, los compuestos polifenólicos con estas características son sumamente importantes a considerar en la síntesis verde para obtener *AgNPs* más estables (Esquivel, 2020; Santos, 2020).

En general, el mecanismo de biosíntesis con metabolitos secundarios incluye tres fases principales:

- La fase de activación o biorreducción. En esta etapa, los iones metálicos se reducen y se inicia la nucleación de los átomos de metal reducido.
- La fase de crecimiento o nucleación. Durante esta fase, las pequeñas nanopartículas cercanas se unen espontáneamente para formar partículas más grandes (conocido como maduración de Ostwald), lo que conlleva un aumento en la estabilidad termodinámica de las nanopartículas.
- La fase de terminación del proceso o estabilización determina la forma final de las nanopartículas (Esquivel, 2020).

2.2.1.4.2. Síntesis de nanopartículas metálicas usando antioxidantes provenientes de microorganismos

Entre los microorganismos que producen compuestos beneficiosos para los seres humanos, destacan las *Actinobacterias*, especialmente las de origen marino (Gómez, 2018). Estas bacterias sobresalen por su diversidad y los complejos mecanismos metabólicos que les permiten adaptarse a condiciones extremas de temperatura, presión y salinidad. Gracias a estas adaptaciones, son capaces de sintetizar una amplia gama de metabolitos, como carotenoides, flavonoides, fenoles y exopolisacáridos, que constituyen una valiosa fuente de actividad antioxidante (Abril, 2022). Estas son bacterias Gram-positivas y filamentosas, pertenecen al orden *Actinomycetales* y se distinguen por la producción de compuestos con actividad biológica, incluyendo antibióticos clínicos como estreptomicina, tetraciclina y cloranfenicol, así como agentes antitumorales. Además, generan moléculas con propiedades inmunosupresoras, fitotóxicas, biopesticidas, biosurfactantes y probióticas, además de metabolitos secundarios con destacada actividad antioxidante, como compuestos polifenólicos, proteínas, ácidos orgánicos y carotenoides. Esta amplia gama de metabolitos convierte a estas bacterias en importantes herramientas para la síntesis verde de *AgNPs* (Abril, 2022). Esta síntesis busca ser ecológico con el medio ambiente, a comparación con la producción tradicional de *AgNPs* por métodos químicos. Debido a su simplicidad, este método ofrece gran versatilidad para obtener *NPs* en diversas formas y tamaños.

Además, supera los problemas comunes de métodos anteriores, que solían ser más costosos y no escalables en términos de producción (Llacuna, 2012).

Para la síntesis verde, se requiere una sal metálica y un extracto acuoso que contenga compuestos con actividad antioxidante, como polifenoles, proteínas, carbohidratos, ácidos orgánicos y carotenoides (ver Figura 6). Estos componentes son fundamentales porque juegan un papel clave en los procesos de bio-reducción, estabilización y bioprotección, lo que ayuda a formar nanopartículas estables. En este proceso, proporcionan electrones a los cationes metálicos, convirtiéndolos en una forma metálica neutra y de tamaño nanométrico (Esquivel, 2020). Las propiedades fisicoquímicas de los polifenoles, especialmente su reactividad química tiene la capacidad antioxidante debido a su actividad óxido-reductora (Santos, 2020).

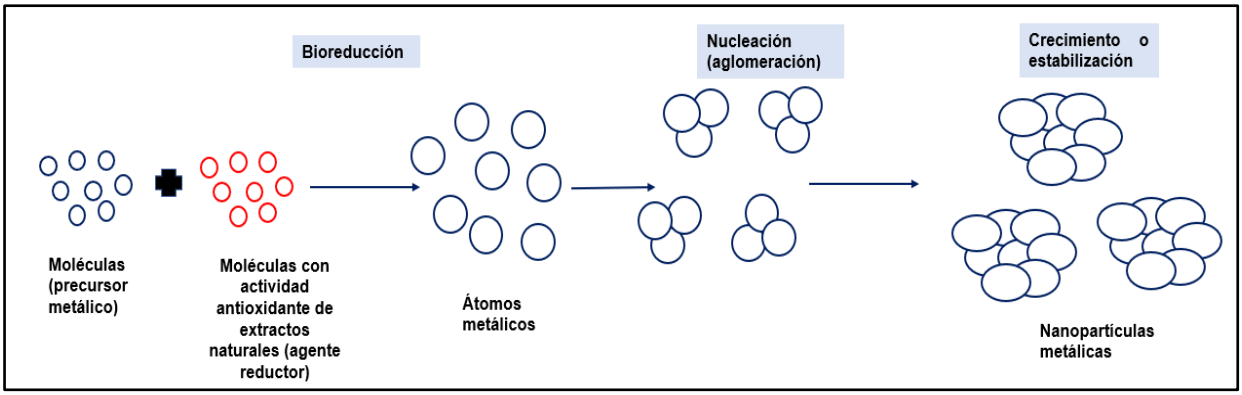


Figura 6. Proceso de síntesis verde de nanopartículas metálicas (Elaboración propia)

2.3. Actinobacteria

Las *Actinobacterias* son un grupo de procariotas Gram positivos y anaerobios facultativos que presentan una gran diversidad morfológica que incluyen principalmente cocoides que posteriormente se fragmentan en forma de hifas, pueden ser filamentosos, con apariencia micelial, pero sin formar micelio aéreo, o no-filamentosos (Ortega, 2016). Debido a dicha morfología eran llamados actinomicetos. Además de eso se consideraban formas de transición entre hongos y bacterias. Sin embargo, la comparación con los hongos es solo superficial. Al igual que todas las bacterias, las células de los actinomicetos son delgadas, con un cromosoma organizado en un nucleoide procariota y una pared celular de peptidoglicano. Agregando a lo anterior, estas células son susceptibles a los agentes antibacterianos, por lo que se reclasificaron como bacterias (Ait, et al, 2015).

Las *Actinobacterias* están ampliamente distribuidas en ambientes con condiciones extremas de salinidad, alcalinidad, acidez, radioactividad y temperatura. Aunque su crecimiento óptimo ocurre entre 25 y 30 °C, algunas especies termófilas pueden

desarrollarse a temperaturas que varían entre 50 y 60 °C (Ait, et al, 2015). Sin embargo, son poco tolerantes a la acidez, desarrollándose de manera óptima en un intervalo de pH cercano a la neutralidad, entre 5.0 y 9.0 (González, 2020). Son bacterias altamente versátiles que pueden habitar tanto en ambientes acuáticos como terrestres. Se encuentran en superficies rocosas, en el suelo rizosférico, y algunas familias tienen la capacidad de ser patógenas para plantas, animales y humanos (González, 2020).

Estos microorganismos, cuyo hábitat natural es el suelo, también prosperan en suelos con condiciones acuáticas (Abril, 2020). El sedimento marino alberga una gran población de microorganismos, convirtiéndolo en un entorno altamente competitivo. En este ambiente, las bacterias deben desarrollar estrategias especializadas para acceder a los nutrientes disponibles (Cuesta, 2004). Recientemente el sedimento marino se ha convertido en un nuevo y prometedor reservorio de nuevas cepas de *Actinobacterias* bioactivas.

Actualmente, las *Actinobacterias* forman uno de los filos más grandes dentro del Dominio Bacteria, conocido como Filo *Actinobacteria*. Este filo incluye la Clase *Actinobacteria*, que comprende seis órdenes y numerosos subórdenes, abarcando más de 200 géneros y cientos de especies (Figura 7). Entre los subórdenes más destacados se encuentran *Corynebacterineae* y *Streptomycineae*, debido a que sus familias tienen una notable capacidad de síntesis de compuestos con actividad biológica, lo que las ha convertido en un objeto de estudio importante (Gorrín, 2018).

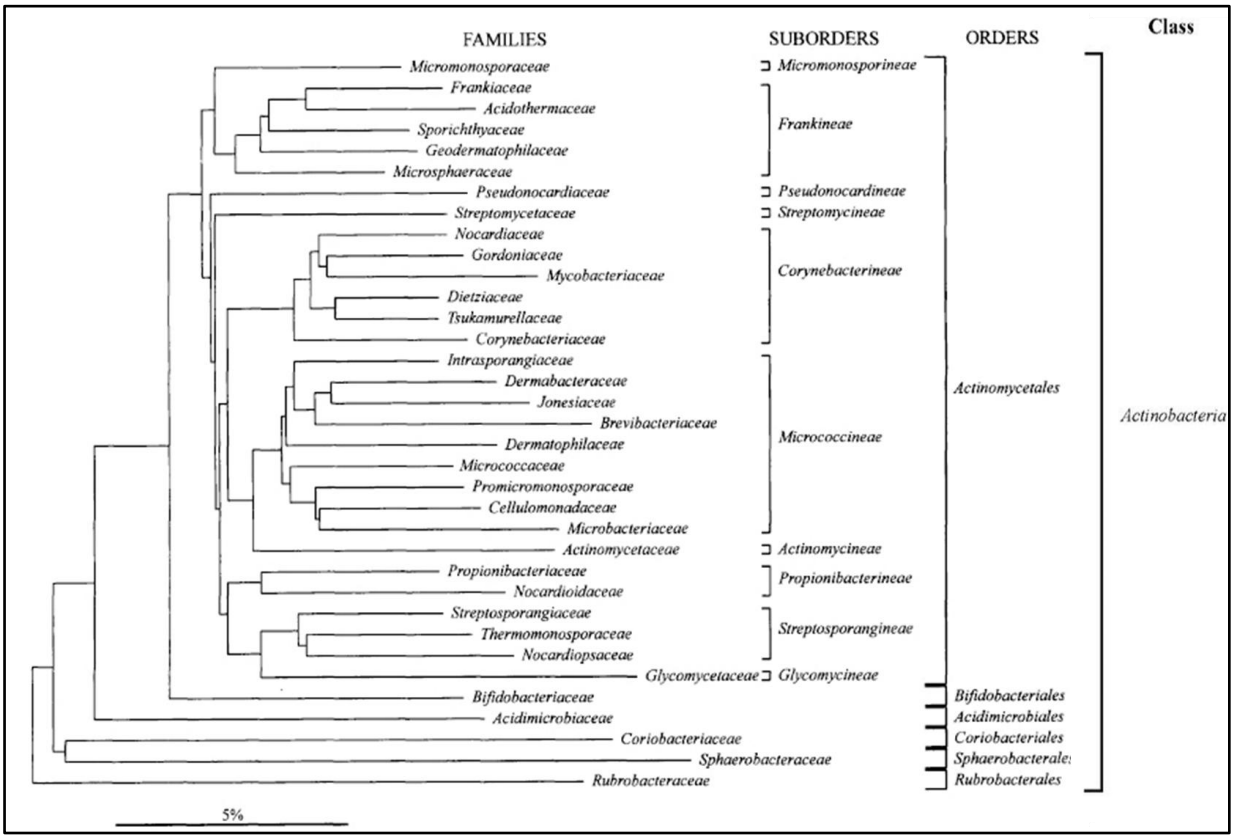


Figura 7. Árbol filogenético de Actinobacteria, basada en la comparación de las secuencias del ARN ribosómico 16S (Tomada de Gorrín, 2018).

2.3.1. *Actinobacterias* marinas como productoras de antioxidantes

Las *Actinobacterias* marinas son ahora reconocidas como una valiosa fuente de metabolitos novedosos con significativa relevancia en biotecnología y farmacología (Cuesta, 2004), algunos de estos nuevos metabolitos son compuestos con actividad antitumoral e inmunosupresora. En investigaciones previas se ha medido la actividad antioxidante de *Actinobacterias* marinas aisladas del Golfo de México debido a la presencia de pigmentos carotenoides, así como de otros metabolitos como compuestos polifenólicos, proteínas, taninos, saponinas, glucósidos, cumarinas y carbohidratos presentes en extractos de diferente polaridad mediante el método DPPH acoplado a cromatografía de líquidos de alta resolución (Zarate, 2019; Ortega et. al, 2016).

2.3.2.1. Suborden Corynebacterineae

El suborden *Corynebacterineae* contiene bacilos rectos o ligeramente curvados Gram positivos ramificados, anaerobios facultativos, catalasa positivos, a menudo de extremos afilados. Este suborden se compone principalmente de 5 familias: *Corynebacteriaceae, Dietziaceae, Mycobacteriaceae y Nocardiaceae* (Cuesta, 2004).

- La familia *Corynebacteriaceae* contiene bacilos rectos o ligeramente curvados, anaerobios facultativos, catalasa positivos, a menudo de extremos afilados. se

dedujo por primera vez mediante estudios de relación de secuencia de genes 16S rRNA casi completos en 1995. Son bacterias que miden entre 2-6 micrómetros de longitud y 0,5 micrómetros de diámetro, a menudo con una forma en V. Estas bacterias están ampliamente distribuidas en la naturaleza y se encuentran en el suelo, el agua, productos alimenticios, y también en la piel y mucosa de humanos y animales. Entre ellas se encuentran especies como *Corynebacterium bovis*, *C. mutissium*, *C. xerosis*, y *C. hoffmani*, que habitan en la piel humana, especialmente en la zona axilar. Algunas de estas especies son patógenas para humanos y animales, siendo *C. diphtheriae* la más conocida por producir la toxina diftérica (Venil, et al, 2020).

- La familia *Dietziaceae* se formó tras la reclasificación de *Rhodococcus maris* a *Dietzia maris* en función de la secuenciación del gen 16S rRNA. Los resultados indicaron que *R. maris* no pertenece al género *Rhodococcus*, sino que se sitúa dentro del género *Corynebacterium*. El género *Dietzia* está compuesto por bacilos en forma de cocobacilos, que son Gram positivos, catalasa positivos, aerobios y no forman esporas (Skoog, et al, 1971). Se forman colonias brillantes circulares, elevadas o convexas con bordes enteros en agar. La pigmentación varía de naranja a rojo coral (Cabrera, 2017).
- La familia *Mycobacteriaceae* se caracteriza por bacilos que pueden ser ligeramente curvos o rectos, y que a veces ramifican y forman filamentos que se fragmentan en bacilos y cuerpos en forma de cocoides. Estos microorganismos son aerobios y catalasa positivos. Su crecimiento es muy lento, requiriendo entre 2 y 40 días de incubación en un agar complejo para formar colonias visibles de color blanco o crema brillante. Algunas especies dentro de esta familia también presentan pigmentos carotenoides (Venil, et al, 2020).
- La familia *Nocardiaceae* está formada por bacilos Grampositivos ramificados (Trastoy, 2017), La primera cepa de *Nocardia* fue aislada en 1888 por el veterinario y bacteriólogo francés Edmond Nocard, y un año después fue caracterizada por Trevisan, quien la nombró *Nocardia farcinica* (González, 2006). Estos microorganismos son aerobios, catalasa positivos, y presentan una resistencia parcial a los ácidos y alcoholes (Venil, et al, 2020), son Gram-positivos o variables, toleran un pH que varía entre 6.5- 9.0 y pueden crecer a temperaturas que oscilan entre 10 y 50 ºC. Las condiciones óptimas para su crecimiento son entre 28 y 30 ºC, con una ligera alcalinidad y una atmósfera que contenga del 5 al 10% de dióxido de carbono (CO_2) (Cuesta, 2004). Las colonias formadas por las bacterias del género *Nocardia* presentan colores que pueden variar entre marrón, rosa,

naranja o rojo, y en algunos casos, las células pueden agruparse en agregados. Este género comprende más de 50 especies, de las cuales alrededor de la mitad son patógenas para humanos y/o animales. Entre las especies de interés médico se encuentran *N. asteroides*, *N. brasiliensis*, *N. pseudobrasiliensis* y *N. otitidiscaviarum*. Estas bacterias son saprófitas y se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza (Ferreruela, s.f., González, 2006). Cabe mencionar que en este género fue transferido el género *Gordonia* esto basado a sus propiedades químicas, microbiológicas y la secuencia del 16S rRNA. *Gordonia* está compuesto por pequeños bacilos y formas cocáceas que pueden formar hifas con ramificaciones en ángulo recto; son aerobias, Gram-positivas, catalasa positivas y, en algunos casos, parcialmente ácido-alcohol resistentes. Forman colonias de colores marrón, rosa, naranja o rojo, y sus células pueden agruparse en algunos casos; Además este género ha sido identificado como un patógeno oportunista, aislado de esputos de pacientes con afecciones pulmonares, como *G. sputi* y *G. bronchialis*, así como también como productores de bacteriemias (Cuesta, 2004).

2.3.2.2. Suborden Streptomycineae

Este suborden incluye únicamente la familia *Streptomycetaceae*, que abarca el importante género *Streptomyces*. Es un género de bacterias Gram-positivas que crece en diversos ambientes y presenta una forma filamentosa similar a la de los hongos. La característica más interesante de *Streptomyces* es su capacidad para producir metabolitos secundarios bioactivos (compuestos que no son esenciales para la supervivencia de la bacteria) como antifúngicos, antivirales, antitumorales, antihipertensivos e inmunosupresores. Aunque, su principal importancia radica en la producción de numerosos antibióticos de origen natural de uso clínico, como la estreptomicina, el ácido clavulánico, la neomicina, el cloranfenicol y la fosfomicina. Además, *Streptomyces* es notable por sus procesos de biotransformación y su papel fundamental en los ciclos biológicos de la materia orgánica. Es importante mencionar que *S. coelicolor* se distingue por el característico olor a "tierra húmeda" que produce, debido a la producción de un metabolito volátil llamado geosmina. Sin embargo, las bacterias del género *Streptomyces* rara vez son patógenas, pueden causar infecciones en humanos, como el micetoma por *S. somaliensis* y *S. sudanensis* (De Lima, et. al.,2012).

3. JUSTIFICACIÓN

El cáncer representa una de las principales razones de mortalidad en México, y se proyecta un aumento en los próximos años, principalmente asociado al envejecimiento de la población (Abril, 2020). Esta enfermedad se caracteriza por la proliferación descontrolada de células anormales o dañadas en el cuerpo, las cuales tienen la capacidad de diseminarse a otras áreas, dando origen a la formación de tumores (Santos, 2020).

La nanotecnología, como un prometedor campo interdisciplinario, está impulsando el desarrollo de métodos avanzados para el diagnóstico del cáncer gracias a sus propiedades ópticas, magnéticas y estructurales. Las nanopartículas pueden adherirse a las células cancerosas, contribuyendo a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y generando estrés oxidativo (EO). Este estrés oxidativo induce cambios en el potencial de la membrana mitocondrial, un componente clave en la señalización para la apoptosis celular (González, 2020).

Esta investigación tiene como objetivo demostrar la eficacia de los antioxidantes extraídos de *Actinobacterias* marinas aisladas del Golfo de México en la síntesis ecológica con el medio ambiente de *AgNPs*. Además, se busca explorar su actividad anticancerígena mediante experimentos con células HeLa.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El cáncer es una de las principales causas de muerte en México. Se trata de una enfermedad en la que células anormales o dañadas se desarrollan, multiplican sin control y se propagan a otras partes del cuerpo (González, 2006). El cáncer cervicouterino es el cuarto tipo de cáncer más común entre las mujeres a nivel mundial. En 2020, se estimó que hubo 604,000 nuevos casos y 342,000 muertes debido a esta enfermedad (Llacuna, 2012). El cáncer cervicouterino es un tumor maligno que comienza en el cuello del útero y es más común en mujeres mayores de 30 años. A nivel global, es el cuarto tipo de cáncer más frecuente entre las mujeres (Torres, 2012; Cuesta, 2004). En México desde 2019 el cáncer cervicouterino es la segunda causa de muerte en mujeres, convirtiéndose en una de las principales causas de mortalidad debido a su aumento en los últimos años (Rank, 2022; López, 2013).

Por otro lado, la nanotecnología es un campo prometedor en el diagnóstico y tratamiento del cáncer con el desarrollo de *NPs*, principalmente las *AgNPs* debido a que exhiben algunas propiedades que son diferentes comparadas con las de átomos y moléculas, como por ejemplo el incremento de área superficial comparado con las micro y macropartículas, el tamaño y su forma (Torné, 2020). Estas *NPs* se unen a las células cancerosas las cuales pueden inducir la muerte celular (Tratamientos contra el cáncer, 2024).

Debido a las características únicas de las *NPs* mencionadas anteriormente, se han desarrollado varios métodos de síntesis, tanto químicos como físicos, para controlar su tamaño, forma, composición y respuesta a diferentes estímulos, como radiación electromagnética o reactividad química. Estas tecnologías prometen superar los problemas graves de efectos secundarios asociados con los tratamientos convencionales de quimioterapia o radioterapia. Los primeros métodos descritos para la síntesis de *AgNPs* son aquellos descritos por Lee-Meisel y Creighton. En ambos métodos se utiliza el $AgNO_3$ como precursor metálico; la diferencia radica en el uso del agente reductor, el método Lee-Meisel utiliza citrato de sodio mientras que el método Creighton utiliza $NaBH_4$. Sin embargo, los métodos mencionados anteriormente utilizan materiales tóxicos como los agentes reductores que pueden afectar el ambiente como el $NaBH_4$. Con base en lo anterior, se han buscado métodos de síntesis verde para reducir el impacto ambiental; en donde los antioxidantes, al poder realizar procesos óxido-reducción, se han propuesto como agentes reductores de precursores metálicos como el $AgNO_3$, presentando como ejemplo al ácido gálico, el cual ha permitido la obtención de *AgNPs* a temperatura ambiente (Cardoso, 2016).

Aunque la mayoría de los compuestos antioxidantes provienen de fuentes vegetales,

los microorganismos también tienen un gran potencial. Gracias a su diversidad y a los mecanismos metabólicos que desarrollan para adaptarse a condiciones adversas, pueden sintetizar una amplia gama de metabolitos antioxidantes de forma sostenible (Ortega et. al, 2016). En esta investigación se estudiarán las *Actinobacterias*, que son microorganismos conocidos por producir una amplia gama de compuestos con diversas actividades biológicas. Entre estas actividades, destacan especialmente sus propiedades antibióticas y antitumorales (Sánchez, 2017).

Aunque los microorganismos terrestres suelen ser los más estudiados debido a su accesibilidad, el entorno marino también ofrece una rica diversidad de organismos capaces de producir compuestos valiosos como carotenoides, flavonoides, fenoles y exopolisacáridos, aprovechando las condiciones extremas de temperatura, presión y salinidad en las que se desarrollan (Gutiérrez, 2021). Debido a lo anterior, las *Actinobacterias* marinas se han considerado actualmente como nuevas fuentes de metabolitos con gran importancia biotecnológica y farmacéutica (Cardoso, 2016). En investigaciones previas se ha medido la actividad antioxidante de *Actinobacterias* marinas aisladas del Golfo de México debido a la presencia de pigmentos carotenoides, así como de otros metabolitos presentes en extractos de diferente polaridad mediante el método DPPH acoplado a HPLC. Dichas *Actinobacterias* pertenecen al suborden *Corynebacterineae* y a la familia *Nocardiaceae* (Zarate, 2019; Ortega, 2016).

La presente investigación pretende probar que los antioxidantes extraídos de *Actinobacterias* marinas aisladas del Golfo de México pueden usarse para la biosíntesis de *AgNPs*, las cuales presentan actividad anticancerígena en células HeLa.

5. HIPÓTESIS

Las *AgNPs* preparadas con los antioxidantes extraídos de *Actinobacterias* marinas, tienen efecto citotóxico sobre una línea celular de cáncer cervicouterino**.**

6. OBJETIVOS

6.1. General

Determinar si las nanopartículas de plata preparadas con antioxidantes extraídos de *Actinobacterias* marinas ejercen efecto citotóxico en una línea celular de cáncer cervicouterino.

6.2. Particulares

- Identificar molecularmente las *Actinobacterias* marinas cuyos extractos presentan la mejor actividad antioxidante.
- Obtener los metabolitos presentes en las *Actinobacterias* marinas mediante extracción consecutiva con disolventes de diferente polaridad.
- Seleccionar los extractos que presentan mejor actividad antioxidante a través del potencial redox.
- Evaluar los extractos seleccionados mediante tamizaje metabólico.
- Cuantificar los metabolitos presentes en los extractos seleccionados mediante técnicas espectrofotométricas.
- Sintetizar y caracterizar las nanopartículas de plata mediante técnicas espectroscópicas y microscópicas.
- Determinar la viabilidad de una línea celular de cáncer cervicouterino tratada con las nanopartículas de plata y antioxidantes.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas etiquetadas como Joc-8 y Joc-9 de *Actinobacterias* fueron proporcionadas por el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México en 2013, dichas cepas se aislaron a partir de sedimentos a 300 metros de profundidad en el Golfo de México; mientras que *N. corallina* fue proporcionada por el Laboratorio de Biotransformaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Las mencionadas cepas se cultivaron en agar de infusión de cerebro y corazón (BHI) mediante estría cruzada durante 3 días a 30°C, y la pureza del cultivo se verificó mediante la observación de su morfología macroscópica y se confirmó a través de su análisis microscópico utilizando la tinción de Gram (Zarate, 2019; Ortega, 2016).

7.1. Extracción de ADN y secuenciación para caracterización filogenética de *Actinobacterias*.

Se inocularon las colonias aisladas en 5 mL de caldo BHI y se incubaron a una temperatura de 30°C, durante 7 días. Con la muestra del medio se realizó la extracción de ADN para la cual fue utilizando el kit Wizard® Genomic DNA Purification de la marca Promega siguiendo el protocolo sugerido por el proveedor. Posteriormente se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1% en una cámara de electroforesis horizontal (Multisub Choice Trio) y se corrió a 100 V durante 40 min esto con el fin de confirmar la presencia de ADN. Por último, el gen 16S ADNr se amplifico utilizando reactivos comerciales se colocaron para cada reacción 7.5 µL PCR Master Mix (2X) de Promega, 1.0 µL de cada uno de los iniciadores (8 for 5'-AGACTTTGATCMTGGCTCAG-3' y 1492 rev 5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'), 3.0 µL de agua libre de nucleasas, 1.0 µL de albúmina sérica bovina (400 ng/µL) y adicionando 5 µL del ADN extraído anteriormente. Una vez realizada la amplificación del gen 16S ADNr, se purificó con el reactivo de limpieza para PCR ExoSAP y se envió para secuenciación en Macrogen (Corea).

Las secuencias resultantes se compararon en la base de datos GenBank mediante un análisis n-BLAST. Además, las secuencias se alinearon con los programas ClustalX y Bioedit con la opción de alineación manual (Monge, 2009).

7.2. Fermentación de bacterias para obtención y liofilización de biomasa

Se inocularon en un volumen de 5 mL de caldo BHI con las cepas etiquetadas como Joc-8, Joc-9 y *N. corallina*; se incubaron en una estufa a 30°C durante 7 días. Luego, se preparó un inóculo 0.5 de McFarland, el cual se añadió a 60 mL de medio y se sometió a un proceso de fermentación en un agitador orbital (Prendo AGO 3131) a 30ºC

y una velocidad de agitación de 110 rpm durante 7 días. Seguidamente, se preparó otro inóculo al 0.5 de McFarland, el cual se añadió a 500 mL del caldo de fermentación de BHI, y se sometió a un proceso de fermentación en las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Asimismo, se extrajeron muestras de 15 mL en diferentes intervalos de tiempo (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 días) con el propósito de evaluar el crecimiento.

Luego, la porción restante de la fermentación se sometió a una centrifugación a 3600 rpm durante 15 minutos, eliminando el sobrenadante. La biomasa resultante fue liofilizada y almacenada para su utilización en etapas posteriores (Zarate, 2019; Ortega et. al, 2016).

7.2.1. Evaluación del crecimiento bacteriano por espectrofotometría

Con las muestras tomadas durante la fermentación para obtener la biomasa, se realizó una curva de crecimiento por el método de espectrofotometría. El crecimiento bacteriano se midió a una longitud de onda de 525 nm en un densitómetro de Biomerieux. Los resultados se representaron en un gráfico de absorbancia frente al tiempo, permitiendo la observación del comportamiento de cada cepa (Escobar, et al, 2010).

7.3. Extracción secuencial de metabolitos con disolventes en orden de polaridad creciente

Para las pruebas preliminares, se tomaron 150 mg de biomasa liofilizada de cada cepa y se realizaron extracciones utilizando disolventes de polaridad creciente. Para ello, se agregaron 3 mL de cada disolvente, comenzando con hexano, seguido de acetato de etilo y finalmente metanol. Después de agitar y centrifugar, se recuperó el sobrenadante, donde se encuentran los metabolitos secundarios.

Para la extracción de la biomasa liofilizada total, se utilizaron 1 g de biomasa y se realizaron extracciones secuenciales de los metabolitos secundarios de interés. Primero, se usaron 20 mL de hexano como disolvente de baja polaridad. Tras la centrifugación, se obtuvo el sobrenadante. Posteriormente, se llevó a cabo una segunda extracción con acetato de etilo, un disolvente de polaridad media, y finalmente se realizó una última extracción con metanol, un disolvente de alta polaridad (Pereyra, et al, 2018; Zarate, 2019).

7.3.1. Caracterización preliminar de los metabolitos secundarios mediante cromatografía de capa fina

Se llevaron a cabo pruebas preliminares en los extractos mediante la técnica de cromatografía en capa fina (CCF). Los extractos se aplicaron en cromatoplacas de sílica gel y se sometieron a cromatografía utilizando dos fases móviles con diferentes concentraciones: hexano: acetato de etilo (100%, 95%:5%, 80%:20%, 50%:50%) y acetonitrilo: agua (100%, 80%:20%, 70%:30%, 50%:50%). Este procedimiento permitió identificar la fase móvil que logra una mejor separación de los compuestos extraídos. Las cromatoplacas se revelaron utilizando lámpara UV y sulfato cerico como reveladores universales. Además, se caracterizaron mediante reveladores químicos específicos, como se detalla en la tabla 1. Esta evaluación ayudó a seleccionar el disolvente que extrae el mayor número de metabolitos de interés (Pereyra, et al, 2018).

Tabla 1. Pruebas con reveladores químicos específicos en cromatografía en capa fina (CCF).

Revelador químico específico	Metabolito	Prueba	Observación
$FeCl_3$ al 10%	Compuestos fenólicos	Aplicar el agente revelador sobre la placa, calentarla por 5 min. y luego leerla bajo luz UV a 254 nm (Hinojosa, et al, 2019)	Formación zonas de color rojo, verde o azul-violeta (Nayive, 2017)
Vainillina sulfúrica	Saponinas	Aplicar el agente revelador sobre la placa, calentarla por 5 min. y luego leerla bajo luz UV a 254 nm (Nayive, 2017).	Formación de manchas azules o azul-violetas y áreas amarillas visibles (Erkan, et al, 2008)
NaOH al 10%	Antraquinonas	Aplicar sobre la placa y se calentó suavemente, calentarla suavemente y luego leerla bajo luz UV a 254 nm (Hinojosa, et al, 2019)	Cambios de color en la placa indican la presencia (Hinojosa, et al, 2019)
KOH al 10%	Cumarinas	Aplicar por la placa el revelador con en forma de barrido y se observó en UV-366 nm (Erkan, et al,	Coloración amarilla para antronas; rojas para

		2008)	antraquinonas y azul para cumarinas (Erkan, et al, 2008)
Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)	Compuestos con actividad antioxidante	Aplicar sobre la placa y luego se colocaron en la estufa a 36°C por 30 minutos y se observó en UV-254 nm (Pereyra, 2018)	Intensificación como puntos amarillos sobre un fondo morado (Pereyra, 2018).
Reactivo de Dragendorff	Alcaloides	Aplicar sobre la placa y después colocar una solución de ácido sulfúrico etanólico al 5% sobre la placa; leer bajo luz UV a 365 nm (Erkan, et al, 2008)	La presencia de manchas color café o naranja y fluorescentes azules o amarillas indica la presencia (Erkan, et al, 2008)
Reactivo de Liebermann-Burchard	Terpenoides y esteroides	Aplicar a la placa mediante aspersor y se observó bajo luz UV a 254 nm (Cuervo, et al, 2017)	La aparición de manchas con tonalidades del rojo, verde o azul (Cuervo, et al, 2017)

7.4. Tamizaje metabólico

Se utilizaron 2 mL de cada extracto previamente obtenido y se sometieron a un tamizaje metabólico siguiendo las pruebas descritas en la siguiente tabla (Zarate, 2019).

Tabla 2. Tamizaje metabólico

Metabolitos	Prueba	Observación
Taninos (Prueba de Brayme)	4 mL H_2O + 2-3 gotas $FeCl_3$ (5%)	Precipitado verde
Flavonoides	2 mL tetraacetato de plomo $Pb(OAc)_4$ (10%)	Coloración amarilla
Saponinas (Prueba de espuma)	5 mL H_2O + calor	Aparece espuma

Carbohidratos (Prueba de Molisch)	10 mL H_2O + 2 gotas alfa-naftol etanólico (20%) + 2 mL H_2SO_4 (conc.)	Anillo violeta rojizo en el cruce
Glucósidos fenólicos (Prueba de Liebermann)	2 mL $CHCl_3$ + 2 mL CH_3COOH	Anillo violeta a azul a verde
Cumarinas	3 mL NaOH (10%)	Coloración amarilla
Alcaloides (Prueba de Hager)	algunas gotas de reactivo de Hager	Precipitado amarillo
Proteínas (Prueba Xantoproteica)	1 mL H_2SO_4 (conc)	Precipitado blanco
Antraquinonas (Prueba de Borntrager)	1 mL cloroformo + 1 mL KOH (10%)	Anillo rojo en el cruce superior
Compuestos fenólicos	10 mL agua destilada + 2 gotas $FeCl_3$ (1%)	Coloración Negro-azulada, Negro-grisácea, Verde-amarillo con precipitado

7.5. Cuantificación de metabolitos secundarios observados durante el tamizaje metabólico

Se llevó a cabo la cuantificación de los metabolitos presentes mediante espectrofotometría UV-Vis, utilizando los métodos indicados en la tabla siguiente (Ortega et. al, 2016; Hernández et al, 2017; Venegas, 2012; Espinosa et al, 2016; Lastra et al, 2000; Ávila et al, 2012; Salamah & Ningsih, 2017; Biju et al, 2014; Fadhil et al, 2007; Bouzid et al, 2020; Chang et al, 2012; Dona et al, 2016; & Smolinksa et al, 2012).

Tabla 3. Cuantificación de metabolitos secundarios

Metabolito	Método	Estándar	Longitud de onda (nm)
Flavonoides	Kostennikova	Quercetina	258
Taninos	Folin	Acido tánico	700
Polifenoles	Folin-Ciocalteu	Ácido gálico	760
Azúcares reductores	DNS	Glucosa	540
Azúcares totales	Fenol-sulfúrico	Glucosa	490

Alcaloides totales	Verde de bromocresol	Atropina	470
Proteínas totales	Lowry-Bradford	Albúmina sérica bovina	595

Con los resultados obtenidos en triplicado, se realizó un ANOVA de un factor con el objetivo de determinar si existen diferencias estadísticamente significativas. Posteriormente, se llevó a cabo una comparación de medias mediante la prueba de Tukey.

7.6. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos

7.6.1. Método basado en el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

El método del DPPH se basa en evaluar la capacidad de los antioxidantes para reducir el radical DPPH. Se preparó el radical DPPH 30 minutos antes de realizar la medición, en donde se pesó 1.2 mg de DPPH y se aforó a 10 mL con metanol; la solución preparada se almacenó a 4°C protegida de la luz.

Primero se construyó una curva de calibración en donde se añadió en los pozos de una placa de 96 pocillos 100 µL del radical y 100 µL del estándar (Trolox) con concentraciones que van de 0.007-0.035 mg/mL; se dejó reaccionar durante 30 minutos en la oscuridad y se realizó su lectura a 517 nm al minuto 30. Además, mediante la aplicación de la ecuación derivada de la curva patrón de Trolox, se calculó la capacidad antioxidante equivalente de Trolox.

Para la medición se agregó 100 µL de extracto y 100 µL de la solución de DPPH; se dejó reaccionar con las mismas especificaciones que el estándar. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición del radical DPPH o actividad antioxidante mediante la siguiente expresión:

$$\%Inhibición = \frac{ABS_{DPPH} - ABS_{Muestra}}{ABS_{DPPH}} x\ 100$$

Adicional se tomaron distintos volúmenes de extracto (10, 25, 50, 75 y 100 µl) a los cuales se les llevó a un volumen total de 100 µL con metanol y se les adiciono 100 µL del radical DPPH, posteriormente se realizó su lectura. Esto con la finalidad de obtener una gráfica de porcentaje de inhibición frente al volumen y la ecuación de la recta, con la cual se logró tener el IC_{50}; este corresponde a la cantidad de extracto en el que se neutraliza el 50% de los radicales libres del DPPH, es decir, entre más pequeña sea la cantidad es mayor la actividad antioxidante que presenta (Erkan, et al, 2008).

7.6.2. Método basado en el radical 2, 2'-Azinobis-3-etil- benzo-tiazolina-6-acido sulfónico (ABTS)

El método ABTS se basa en la capacidad de los antioxidantes de donar electrones y neutralizar los radicales $ABTS^+$. Previamente se liberó el radical con una mezcla con 19.2 mg del reactivo ABTS y 3.2 mg de persulfato de sodio, se disuelven en agua destilada y se aforó a 5 mL; está solución se mantuvo a temperatura ambiente (±25ºC) y en la oscuridad durante 16 horas para la formación del radical. Una vez formado el radical $ABTS^+$ se diluyó con agua hasta obtener un valor de absorbancia de 0.70±0.02 a 754 nm.

Primero se construyó una curva de calibración en donde se añadió en los pozos de una placa de 96 pocillos 100 µL del radical y 100 µL del estándar (Trolox) con concentraciones que van de 0.007-0.035 mg/mL; se dejó reaccionar durante 30 minutos en la oscuridad y se tomó su lectura al min 10 a 754 nm. Además, mediante la aplicación de la ecuación derivada de la curva patrón de Trolox, se calculó la capacidad antioxidante equivalente de Trolox.

Para la medición se agregó 100 µL de extracción y 100 µL de una solución de ABTS; se dejó reaccionar con las mismas especificaciones que el estándar. Los resultados se expresaron como porcentajes de inhibición de los radicales $ABTS^+$ con la siguiente fórmula:

$$\%Inhibición = \frac{ABS_{ABTS\ t^{\circ}} - ABS_{Muestra\ 10\ min}}{ABS_{ABTS\ t^{\circ}}} x\ 100$$

Adicional se tomaron distintos volúmenes de extracto (10, 25, 50, 75 y 100 µl) a los cuales se les llevó a un volumen total de 100 µL con agua destilada y se les adiciono 100 µL del radical ABTS, posteriormente se realizó su lectura. Esto con la finalidad de obtener una gráfica de porcentaje de inhibición frente al volumen y la ecuación de la recta, con la cual se logró tener el IC_{50}; este corresponde a la cantidad de extracto en el que se neutraliza el 50% de los radicales libres del ABTS, es decir, entre más pequeña sea la cantidad es mayor la actividad antioxidante que presenta (Erkan, et al, 2008).

7.6.3. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza ANOVA de 1 factor y para la comparación de medias entre muestras, se utilizó la prueba de Tukey mediante el software estadístico JMP, usando como variables los extractos y sus repeticiones, siendo la variable de respuesta actividad antioxidante.

7.7. Obtención de nanopartículas de plata con extractos bacteriano de *Actinobacterias* aisladas del Golfo de México

Previamente se preparó una solución de $AgNO_3$ a una concentración de 1 mM. Para la reacción se preparó la mezcla con 30 mL de la solución de $AgNO_3$ y 30 mL de extracto de *Dietzia maris* (Joc-8), *Dietzia maris* (Joc-9) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*). Esta mezcla se incubó a 40°C por 8 días. La reducción de la plata se identificó por el cambio de color de la mezcla, que pasó de amarillo claro a café-rojizo. Al finalizar la reacción, se centrifugó a diferentes velocidades para eliminar componentes del medio o partículas grandes. Primero, se centrifugó a 8000 rpm durante 10 minutos, se recuperó el sobrenadante y se centrifugó a 10000 rpm por 35 minutos. El pellet resultante se lavó con una solución amortiguadora de fosfatos 0.1 X y luego se centrifugó nuevamente a 14000 rpm durante 35 minutos. Se realizaron dos lavados adicionales con agua estéril y se concentraron las *AgNPs* obtenidas repitiendo el último paso de centrifugación. Las *AgNPs* destinadas a los ensayos de viabilidad celular se resuspendieron en agua estéril, mientras que las utilizadas para la caracterización se resuspendieron en 200 µL de solución amortiguadora de fosfatos (PBS, por sus siglas en inglés) 0.1X. Ambas muestras se almacenaron en viales sellados a 4°C, sin exposición a la luz, para su uso posterior (Shanmugasundaram, 2017).

7.8. Caracterización de las nanopartículas de plata

7.8.1. Análisis por espectrofotometría Ultravioleta-Visible

Se suspendieron las *AgNPs* en agua destilada para obtener una dispersión coloidal (1% v/v), con el fin de tomar una alícuota a la cual se le realizó su lectura en un intervalo de 300 a 800 nm y se determinó la longitud de onda de máxima de absorción, usando como blanco agua destilada (Gómez, s.f.). La aparición de bandas de absorción en el espectro alrededor de longitudes de onda de 350 a 500 nm indicó la presencia de *NPsm* (De la llana, 2018).

7.8.2. Análisis por microscopía electrónica de transmisión

Las muestras se prepararon goteando la suspensión de *AgNPs* en solución amortiguadora de fosfatos (PBS) 0.1X sobre rejillas de cobre (3x3 mm) recubiertas con colodión y una capa de carbón; luego se dejaron secar al vacío. Una vez secas, se determinó la morfología de las *AgNPs* utilizando la técnica de TEM (Gómez, s.f.).

7.8.3. Análisis por espectroscopia de infrarrojo (IR) con detección de reflexión total atenuada (ATR)

Las muestras se prepararon goteando una suspensión de *AgNPs* en solución amortiguadora de fosfatos (PBS) 0.1X, utilizando $AgNO_3$ como control. Posteriormente, se sometieron a análisis a través de espectroscopia de infrarrojo (IR, por sus siglas en inglés) con detección de reflexión total atenuada (ATR, por sus siglas en ingles), en un intervalo de 4000 a 600 cm^{-1}, con una resolución de 0.5 cm^{-1}(Pereyra, et al, 2018).

7.9. Cultivo de células HeLa.

Se emplearon líneas celulares HeLa de cáncer cervicouterino para realizar ensayos de actividad anticancerígena. Estas células se cultivaron en condiciones estériles a 37ºC en una atmósfera húmeda con 5% de CO_2, utilizando Medio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con 10% de suero fetal bovino, 100 UI de penicilina y 100 µg de estreptomicina. Los cultivos celulares se trataron con una solución de tripsina al 0.025% y EDTA al 0.03% durante 5 minutos a 37°C. Esto permitió obtener una suspensión celular que se contó en una cámara de Neubauer. (Sánchez, et al, 2009).

7.9.1. Ensayos *in vitro* de la actividad anticancerígena de las nanopartículas de plata (*AgNPs*)

Para cuantificar la viabilidad celular, se cultivaron 4 x 10^4 células por pozo en placas de microtitulación estériles de 96 pozos, añadiendo 100 µL del medio de cultivo y se incubaron durante 24 horas (González, et al, 2017). Las células fueron tratadas con 50 µL de una suspensión de *AgNPs* en agua estéril. Se dejaron células sin tratar como control, y se utilizó cisplatino en una concentración de 10 mg/mL como control de citotoxicidad. En todos los casos se añadieron 50 µL de medio de cultivo y se incubaron durante 24 horas. El efecto de las *AgNPs*, las células sin tratar y el cisplatino (CisPt) en la sobrevivencia celular se determinó utilizando el ensayo de metil tiazol tetrazolio (MTT). En el ensayo se incuba con las células en donde las células viables con actividad metabólica convierten el MTT, que es amarillo, en formazán, el cual debe ser solubilizado con un disolvente orgánico como el dimetilsulfóxido y presenta un color morado (Maldonado, et al, 2017; González, et al, 2017). Tras el tratamiento de las células, estas se lavaron tres veces con solución amortiguadora de fosfatos (PBS) 1X. Luego, se añadió 100 µL del medio de cultivo DMEM y 10 µL del reactivo de MTT (5 µg/mL en PBS 1X) a cada pozo, incubando durante 4 horas. Después de la incubación, se retiró el medio y se agregó 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) a cada pozo. La placa

se incubó a 37 ºC durante 10 minutos hasta que los cristales de formazán se disolvieran completamente (De la llana, 2018). El líquido se transfirió a una placa nueva y se midió la absorbancia a 590 nm utilizando un lector de microplacas (Gutiérrez, 2021; González, et al,2017). El porcentaje de viabilidad celular en comparación con las células no tratadas (blanco) se calculará utilizando la fórmula siguiente (González, et al,2017):

$$\%\ de\ viabilidad\ celular = (Am\ /\ Ac)\ x\ 100$$

Donde: **Am** es la absorbancia de la muestra y **Ac** es la absorbancia de la muestra blanco.

7.9.2. Análisis estadístico para los tratamientos en células HeLa

Se utilizó el software estadístico JMP para el análisis de datos, que incluyó la aplicación de ANOVA de medidas repetidas y, a continuación, la prueba de Dunnett. Se consideraron estadísticamente significativos aquellos valores con $p \leq 0.05$ (González, et al,2017).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Crecimiento de *Actinobacterias* aisladas del Golfo de México

Las cepas de *Actinobacterias Dietzia maris* (Joc-8), *Dietzia maris* (Joc-9) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) mostraron un crecimiento óptimo. La pureza del cultivo se verificó mediante el análisis macroscópico, en el que se observó únicamente el crecimiento de colonias con las características típicas de las *Actinobacterias*. Según Gharibzahedi et al. (2014), las cepas de *Dietzia* se distinguen por su pequeño tamaño, forma circular y convexa, superficie brillante y color naranja intenso. Por otro lado, en el caso de la cepa de *Nocardia*, Serrano y Sandoval (2005) describen las características de esta familia como colonias plegadas, granulares, escamosas, con transparencia opaca, bordes irregulares y un color anaranjado rojizo profundo, tal como se detalla en la tabla 4 y se observa en la Figura 8. Además, el análisis microscópico confirmó su identidad a través de la morfología característica de cocos Gram-positivos y su patrón ramificado, como se ilustra en la Figura 8.

Tabla 4. Resultados de la morfología bacteriana

Característica	**Joc-8**	**Joc-9**	***N. corallina***
Transparencia	Brillosa	Brillosa	Opaca
Textura	Lisa	Lisa	Escamosa
Color	Naranja	Naranja	Naranja
Brillo	Con brillo	Con brillo	Sin brillo
Forma	Circular	Circular	Granular
Borde	Entero	Entero	Irregular
Superficie	Lisa, brillante	Lisa, brillante	Escamosa, opaca brillante
Elevación	Convexa	Convexa	Plana

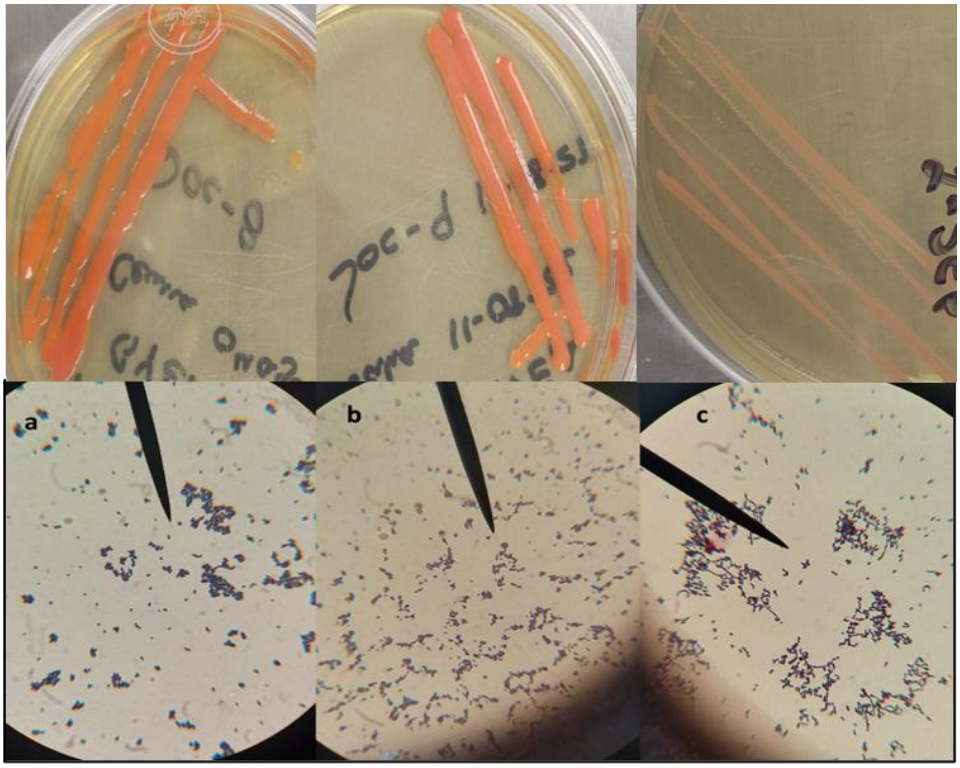


Figura 8. Colonias y tinción de Gram de las cepas a) Joc-8, b) Joc-9 y c) *N. corallina*.

8.2. Extracción de ADN y secuenciación para caracterización filogenética de *Actinobacterias*.

Según los resultados mostrados en la Figura 9 confirma la presencia del ADN de las cepas *Dietzia maris* (Joc-8), *Dietzia maris* (Joc-9) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) en comparación con el control.

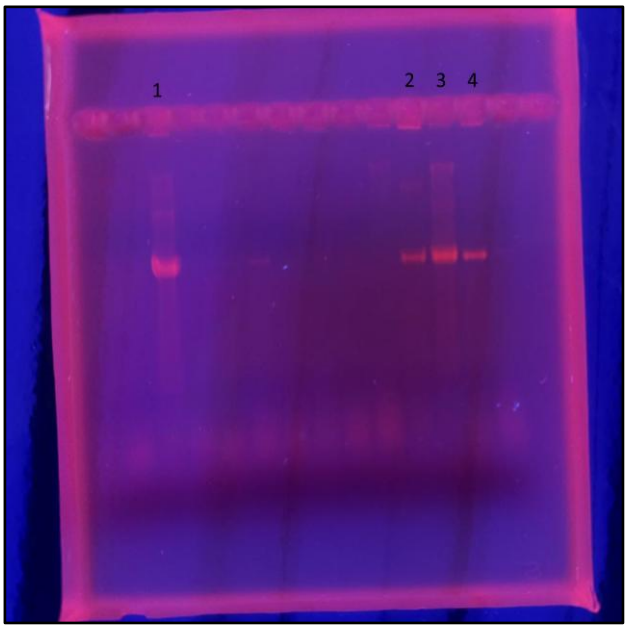


Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa al 1% con un control (1) de las cepas Joc-8 (2), Joc-9 (3) y *N. corallina* (4).

Además, según la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI), la secuenciación confirmó que las cepas pertenecen a la clase *Actinobacteria*, identificándose como *Dietzia maris* y *Nocardia corallina*, tal como se muestra en la Tabla 5.

Resultados de la secuenciación

Muestra	Concentración µg/µl	Cociente de absorbancia (λ) 260/280	Resultado en la base de datos GenBank	% Identidad (BLAST)	E Value
Joc-8	0.049	1.83	*Dietzia maris*	100	0.0
Joc-9	0.0274	1.82	*Dietzia maris*	100	0.0
N. corallina	0.0489	1.84	*Nocardia corallina*	100	0.0

8.3. Fermentación de las cepas.

En la primera fase de la fermentación, descrita en la metodología, las cepas de *Actinobacterias* mostraron una densidad mayor en comparación con el caldo BHI solo (Figura 10), como se observa en la Tabla 6. Esto confirma que se alcanzó un crecimiento adecuado, permitiendo continuar con la siguiente etapa de la fermentación.

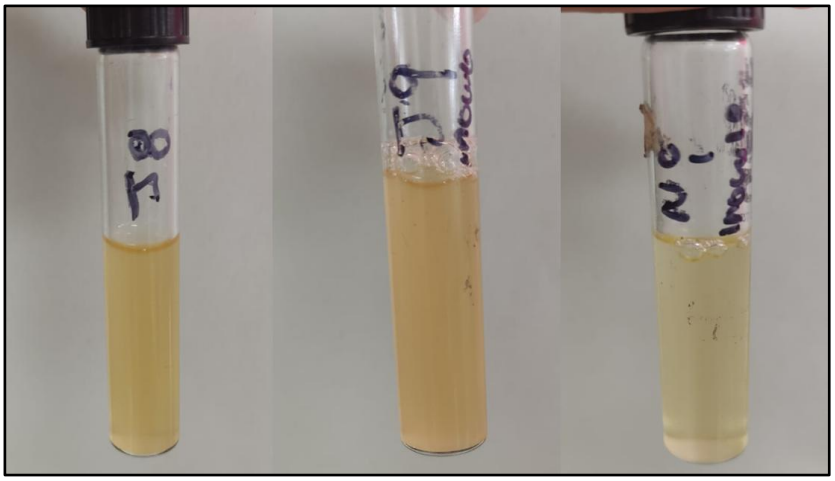


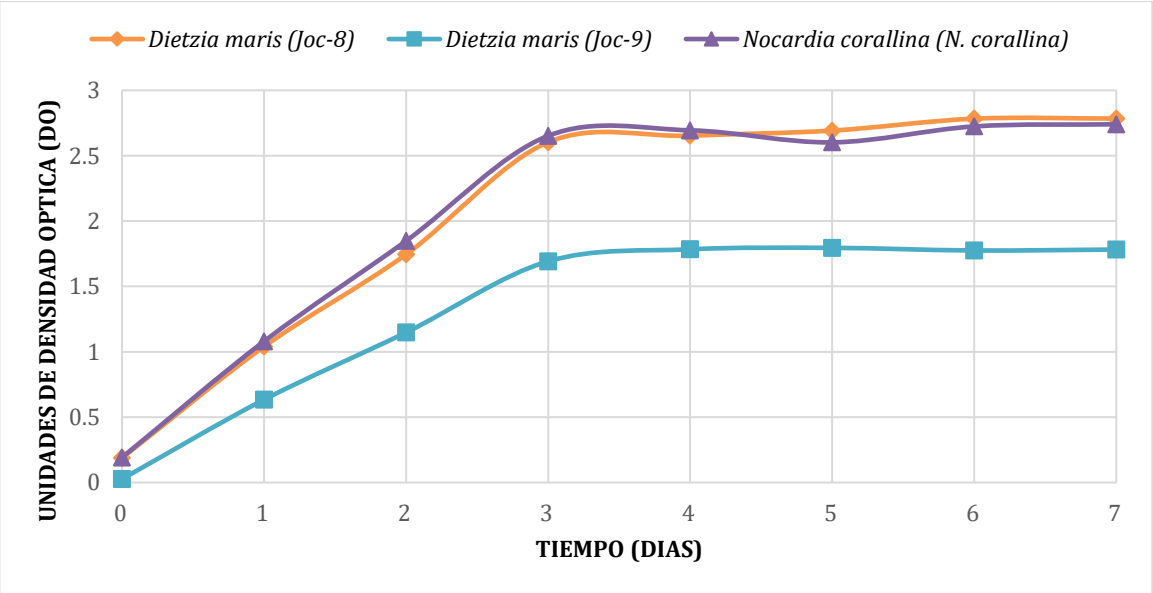
Figura 10. Crecimiento de las cepas Joc-8, Joc-9 y *N. corallina* en 3 mL de caldo BHI.

Tabla 6. Valor de densidad de las cepas.

Cepas	Densidad (McFarland)
Caldo BHI	0.2
Caldo BHI + *Dietzia maris* (J-8)	2.4
Caldo BHI + *Dietzia maris* (J-9)	6.0
Caldo BHI + *Nocardia corallina* (*N. corallina*)	1.8

8.3.1. Curva de crecimiento

En la evaluación del crecimiento, como se muestra en la Tabla 37 del apartado de anexos y la Gráfica 1, las tres cepas exhiben tres de las cuatro fases del crecimiento de poblaciones bacterianas descritas en la literatura (Tortora et al., 2007). Primero, se observa la fase de crecimiento exponencial, con un crecimiento máximo en el día 3. A partir de este punto comienza la fase estacionaria, que es de particular interés debido a la producción de metabolitos secundarios. Sin embargo, dado que se realizó una fermentación escalonada, las cepas no presentaron la fase de adaptación (Lag), ya que ya estaban adaptadas al medio.



Gráfica 1. Cinética de crecimiento de las cepas de *Dietzia maris* (Joc-8), *Dietzia maris* (Joc-9) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*).

8.4. Caracterización de los metabolitos secundarios.

8.4.1. Caracterización preliminar

8.4.1.1. Extracción de metabolitos secundarios

En la extracción con metanol se observó una tonalidad amarilla más intensa, como se muestra en la Figura 11. Esta coloración sugiere la posible presencia de carotenoides y flavonoides, compuestos que, según la literatura, exhiben una notable actividad antioxidante (Ortega, 2016).

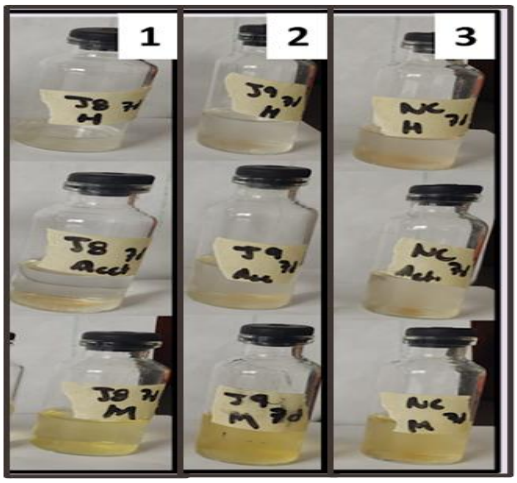


Figura 11. Extracciones de las muestras de *Dietzia maris* (Joc-8) (1), *Dietzia maris* (Joc-9) (2), *Nocardia corallina* (*N. corallina*) (3) con hexano (H), acetato de etilo (Acet) y metanol (M).

8.4.1.2. Caracterización mediante cromatografía en capa fina

8.4.1.2.1. Extracto con hexano

Las cromatoplacas de los extractos tratados con hexano fueron sometidas a corridas en una fase móvil compuesta por hexano-acetato de etilo. Según los valores de los RF (ver Tabla 38 en el apartado de anexos), se considera que una proporción equitativa del 50%:50% en la fase móvil es óptima, ya que en esta se logró la separación de 8 compuestos totales en la complatoplaca con ambos reveladores universales (ver Figura 12). Además, esta proporción demostró una separación significativa, lo que permite concluir que no hay compuestos en coelución.

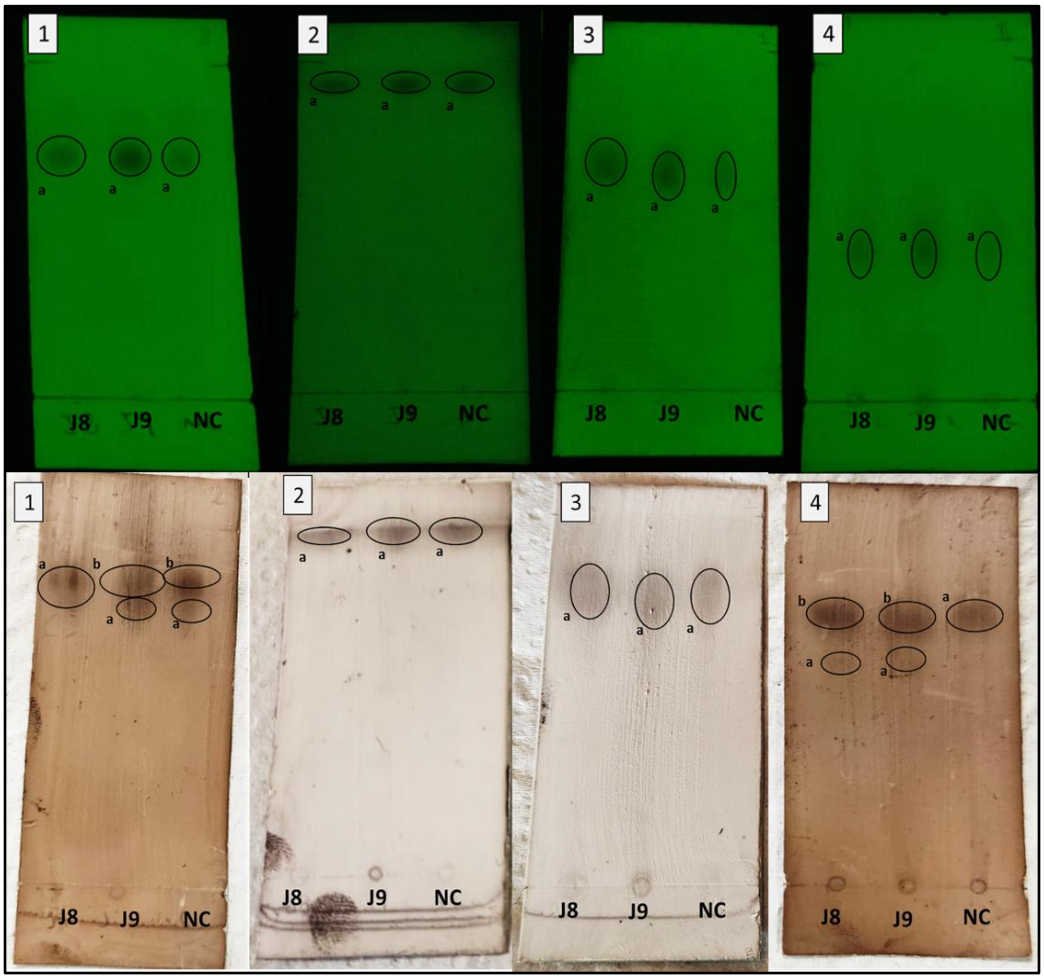


Figura 12. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Hexano: acetato de etilo (1) 100%, (2) 95%:5%, (3) 80%:20% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*.

De manera similar los extractos fueron eluidos utilizando una fase móvil compuesta por acetonitrilo-agua (ver Figura 13). Con base en los valores de los RF´s mostrados en la tabla 39 en el apartado de anexos, se observó que, en todas las proporciones, los compuestos quedaron atrapados en la zona de aplicación. En consecuencia, el número de compuestos obtenidos en ambos reveladores fue menor en comparación con la fase móvil hexano: acetato de etilo al 50%:50%, lo que respalda la elección de esta última como la fase móvil adecuada para los extractos tratados con hexano.

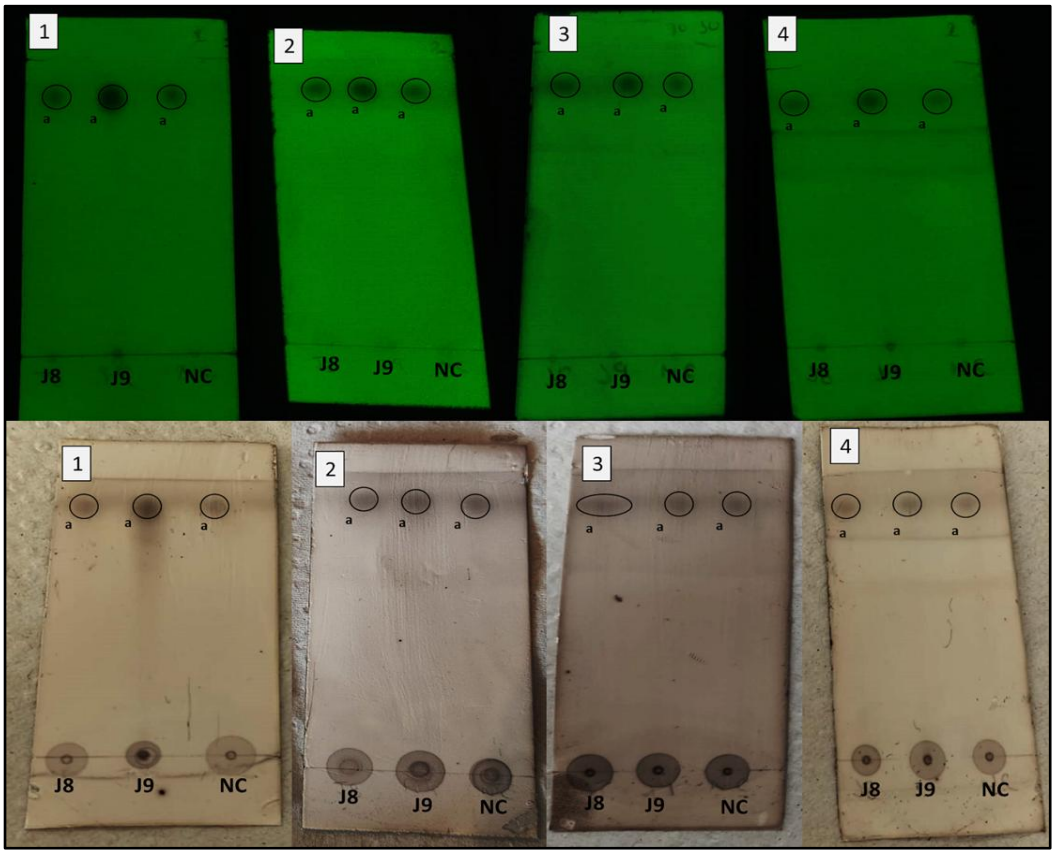


Figura 13. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Acetonitrilo: agua (1) 100%, (2) 80%:20%, (3) 70%:30% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*.

Siguiendo lo expuesto previamente, los extractos fueron eluidos utilizando una fase móvil compuesta por hexano-acetato de etilo al 50%:50%. Esto con la finalidad de llevar a cabo su caracterización mediante cromatografía en capa fina (CCF) utilizando reveladores químicos, cuyo resultado se exhibe en la Figura 14.

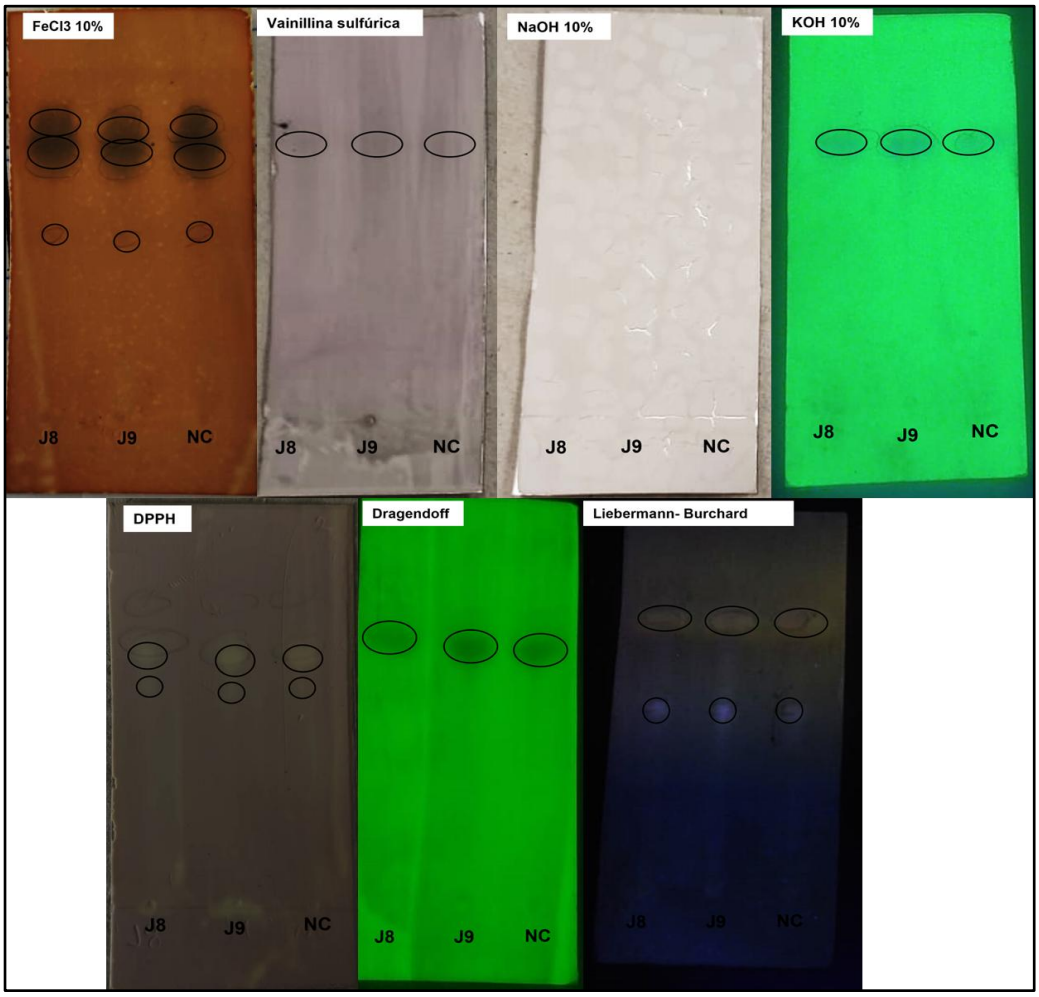


Figura 14. Cromatoplacas reveladas con $FeCl_3$ 10% (compuestos fenólicos), Vainillina sulfúrica (saponinas), NaOH 10% (antraquinonas), KOH 10% (cumarinas), DPPH (actividad antioxidante, Dragendoff (alcaloides) y Liebermann-burchard (terpenoides y/o esteroides).

Estos resultados sugieren que hay una amplia diversidad de metabolitos secundarios en los compuestos extraídos con hexano, englobando compuestos de naturaleza fenólica, saponinas, cumarinas, alcaloides y terpenos. Aunque se observó una actividad antioxidante, esta es leve debido a la tenue coloración evidenciada como se observa en la Figura 14 (DPPH).

8.4.1.2.2. Extracto con acetato de etilo

Basándonos en los valores de los RF (ver Tabla 40 en el apartado de anexos), se consideran proporciones adecuadas al 50%:50% y el 100% de acetato de etilo, ya que en ambas se logró la separación de 6 compuestos en total en la cromatoplaca con ambos reveladores (ver Figura 15). Sin embargo, en la primera proporción, los compuestos se evidencian con mayor intensidad, indicando una concentración más elevada. Además, se observa una separación significativa, lo que permite concluir que no hay compuestos en coelución.

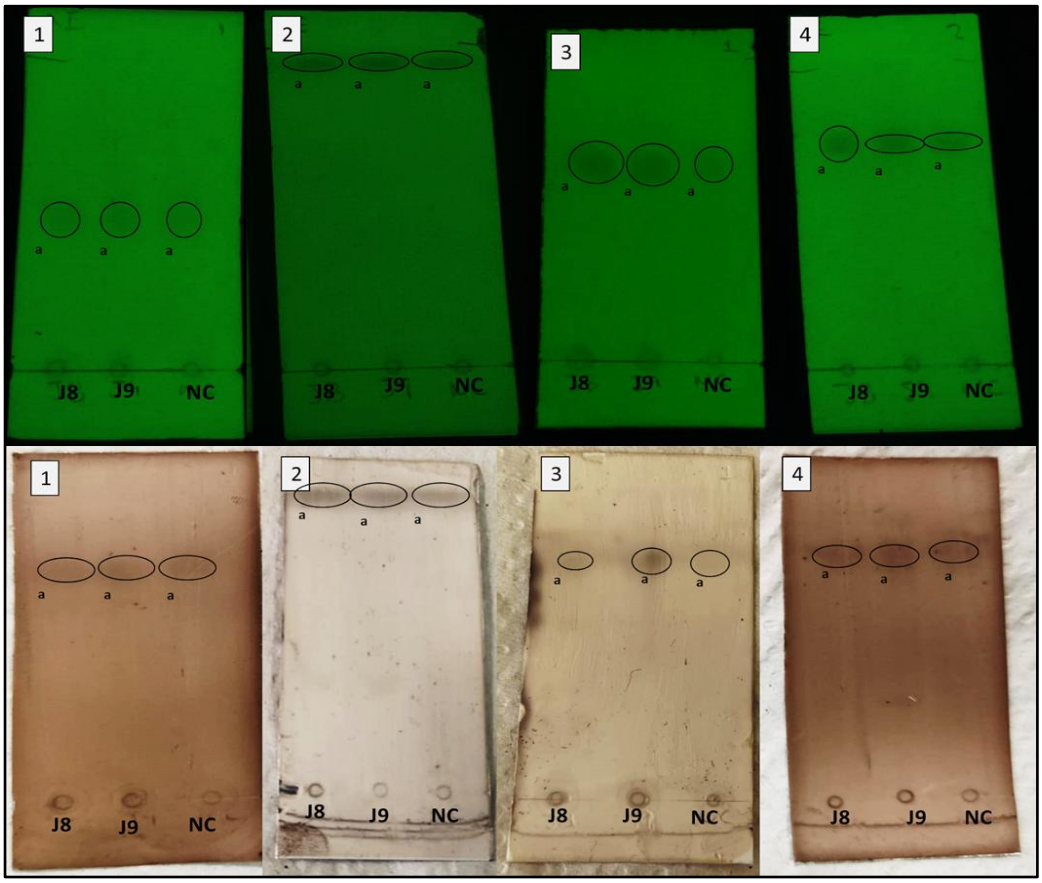


Figura 15. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Hexano: acetato de etilo (1) 100%, (2) 95%:5%, (3) 80%:20% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*.

De manera análoga, los extractos eluidos mediante una fase móvil compuesta por acetonitrilo: agua fueron posteriormente revelados, como se muestra en la Figura 16. Según los resultados obtenidos de valores de RF (ver Tabla 41 en el apartado de anexos), la proporción acetonitrilo: agua 50%:50% reveló un mayor número de 5 compuestos totales en la complatoplaca con ambos reveladores universales en comparación con otras proporciones. No obstante, este número sigue siendo inferior al registrado en los compuestos extraídos con la fase móvil de hexano: acetato de etilo (50%:50%). En consecuencia, se concluye que, para los extractos que contienen acetato de etilo, la fase móvil de hexano: acetato de etilo es la más adecuada.

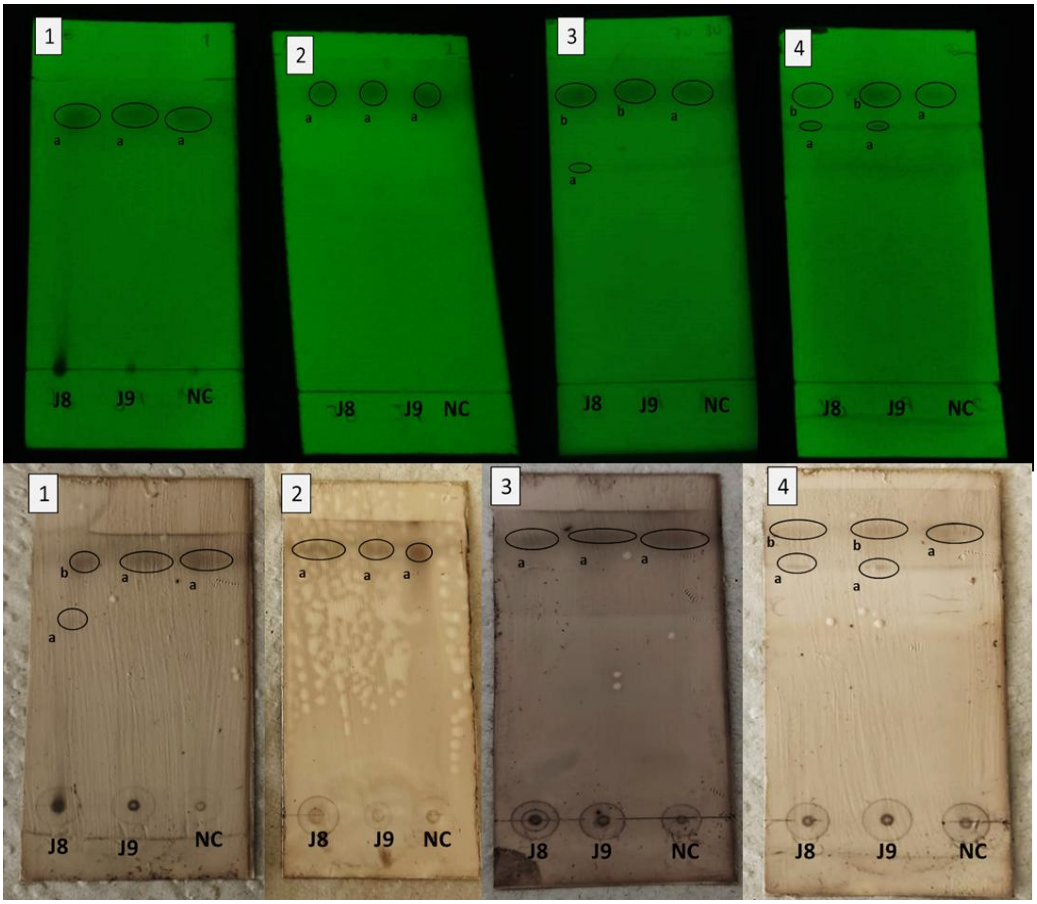


Figura 16. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Acetonitrilo: agua (1) 100%, (2) 80%:20%, (3) 70%:30% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*.

Continuando con la misma línea de observación, los extractos obtenidos con acetato de etilo fueron eluidos mediante la fase móvil de hexano: acetato de etilo (50%:50%) y posteriormente fueron caracterizados utilizando reveladores químicos, como se muestra en la Figura 17.

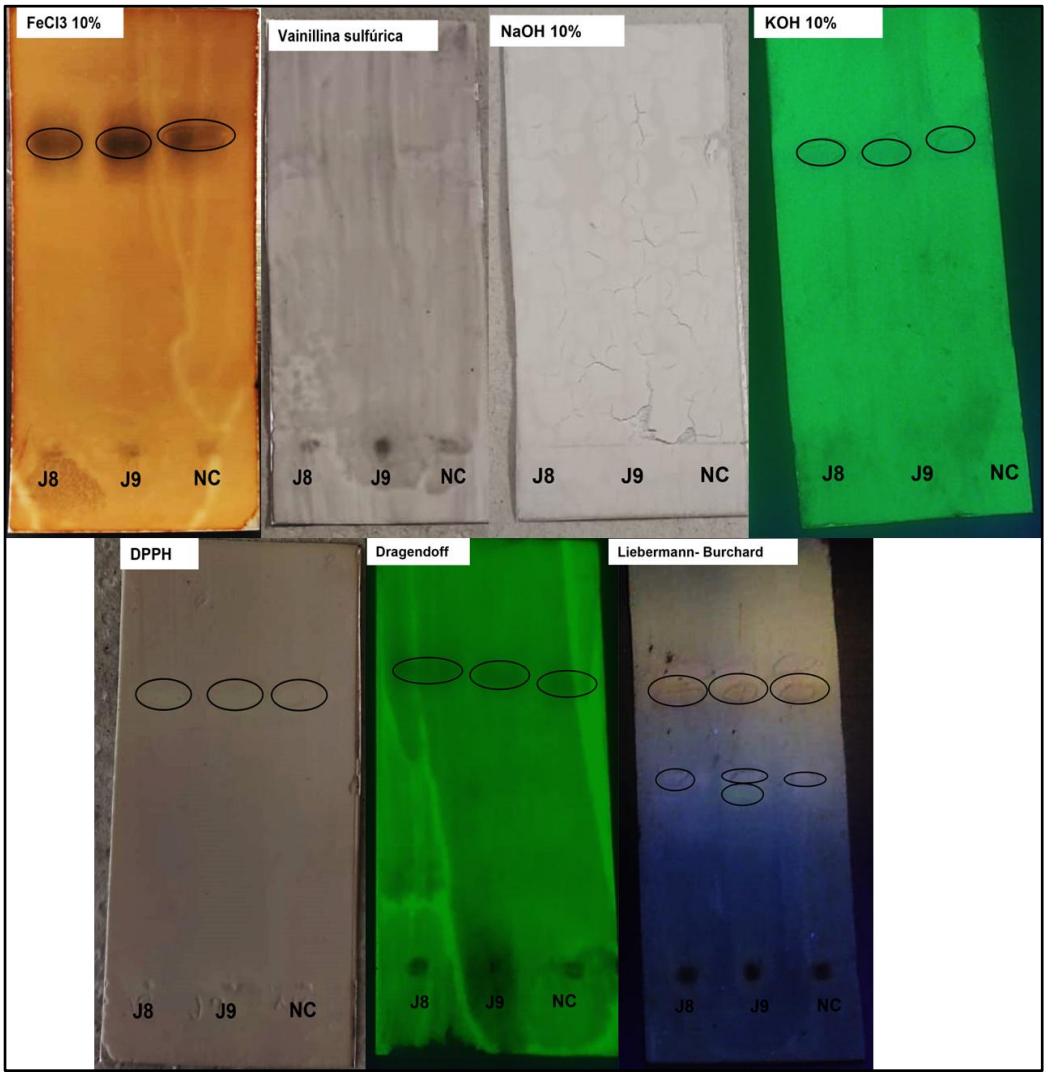


Figura 17. Cromatoplacas reveladas con $FeCl_3$ 10% (compuestos fenólicos), Vainillina sulfúrica (saponinas), NaOH 10% (antraquinonas), KOH 10% (cumarinas), DPPH (actividad antioxidante, Dragendoff (alcaloides) y Liebermann-burchard (terpenoides y/o esteroides).

Estos resultados sugieren que los compuestos extraídos con acetato de etilo exhiben una variedad de metabolitos secundarios, como compuestos fenólicos, cumarinas, alcaloides y terpenos. Aunque se ha verificado la existencia de actividad antioxidante, su intensidad es poca, en parte debido a su tonalidad suave como se ve en la Figura 17 (DPPH).

8.4.1.2.3. Extracto con metanol

Según los valores de RF (ver Tabla 42 en el apartado de anexos), se logró la separación de 5 compuestos totales en la complatoplaca con ambos reveladores universales (ver Figura 18) en las proporciones 95:5 y 80:20. Sin embargo, en todas las proporciones, se observa que los compuestos están concentrados en la zona de aplicación, indicando que la fase móvil no es adecuada, ya que no está permitiendo la elución de todos los compuestos.

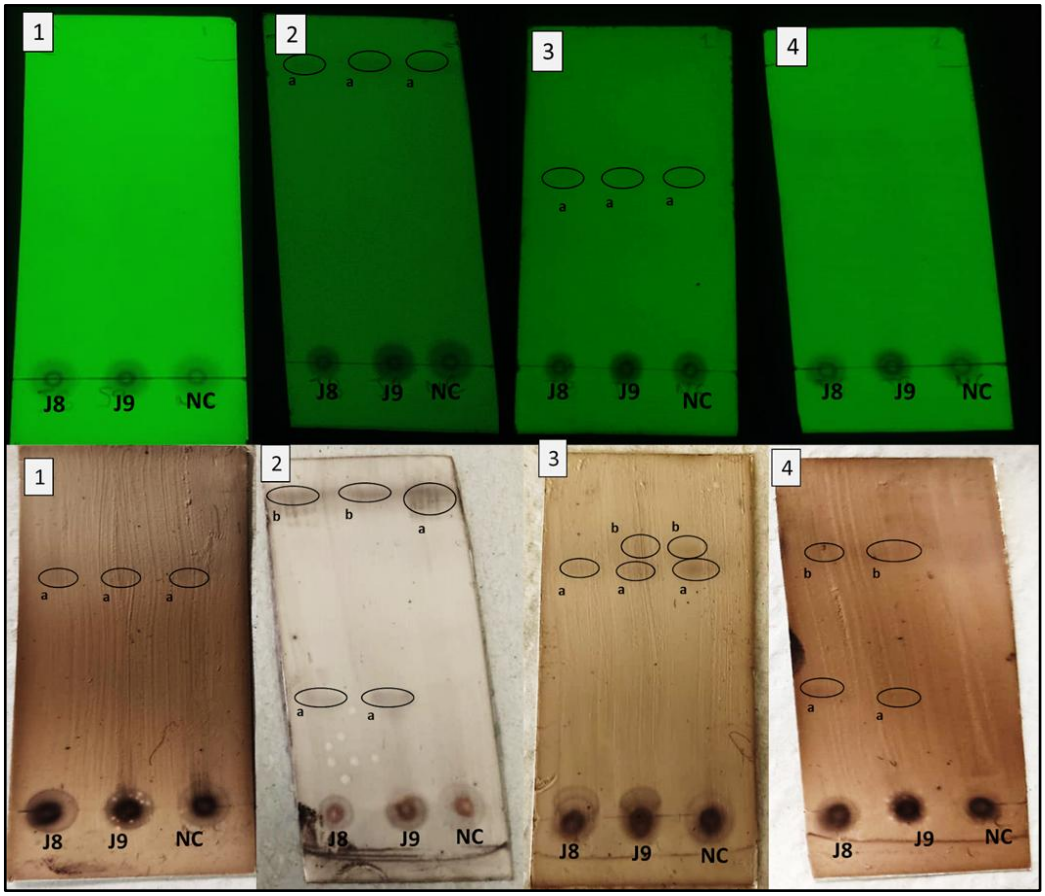


Figura 18. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Hexano: acetato de etilo (1) 100%, (2) 95%:5%, (3) 80%:20% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*.

Los extractos también se procesaron utilizando una fase móvil conformada por acetonitrilo: agua, tal como se presenta en la Figura 19. Se destaca que la proporción 70:30 logra la separación más eficaz de compuestos, alcanzando un total de 14 compuestos totales en la complatoplaca con ambos reveladores universales (ver tabla 43 en el apartado de anexos), superando así el rendimiento obtenido con la fase móvil de hexano: acetato de etilo. Por lo tanto, se concluye que la proporción más apropiada es acetonitrilo: agua (70%:30%).

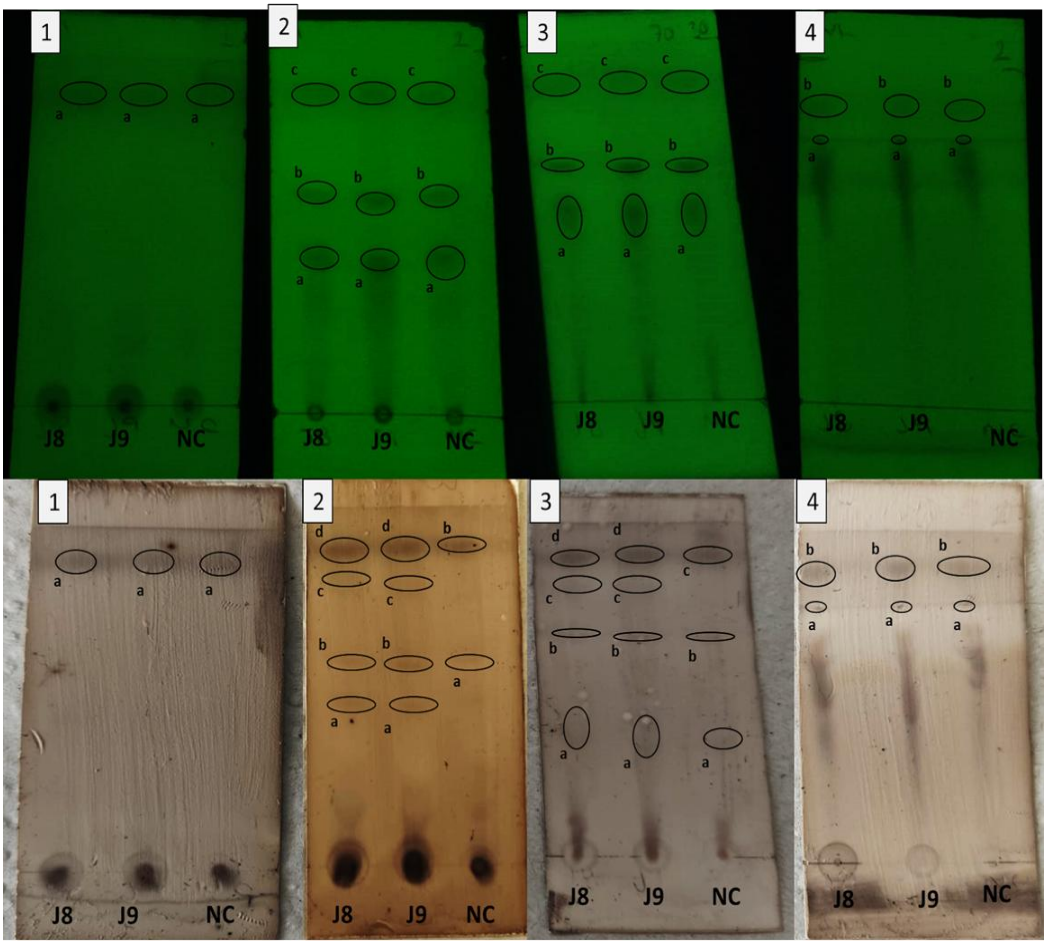


Figura 19. Cromatoplacas reveladas con lámpara UV y sulfato cerico en fase móvil Acetonitrilo: agua (1) 100%, (2) 80%:20%, (3) 70%:30% y (4) 50%:50%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*.

Tomando como referencia la información proporcionada, los extractos obtenidos con metanol fueron eluidos utilizando una fase móvil compuesta por acetonitrilo: agua (70%:30%) la cual es la mejor mezcla eluyente, y posteriormente se sometieron a una caracterización mediante el uso de reveladores químicos, como se visualiza en la Figura 20.

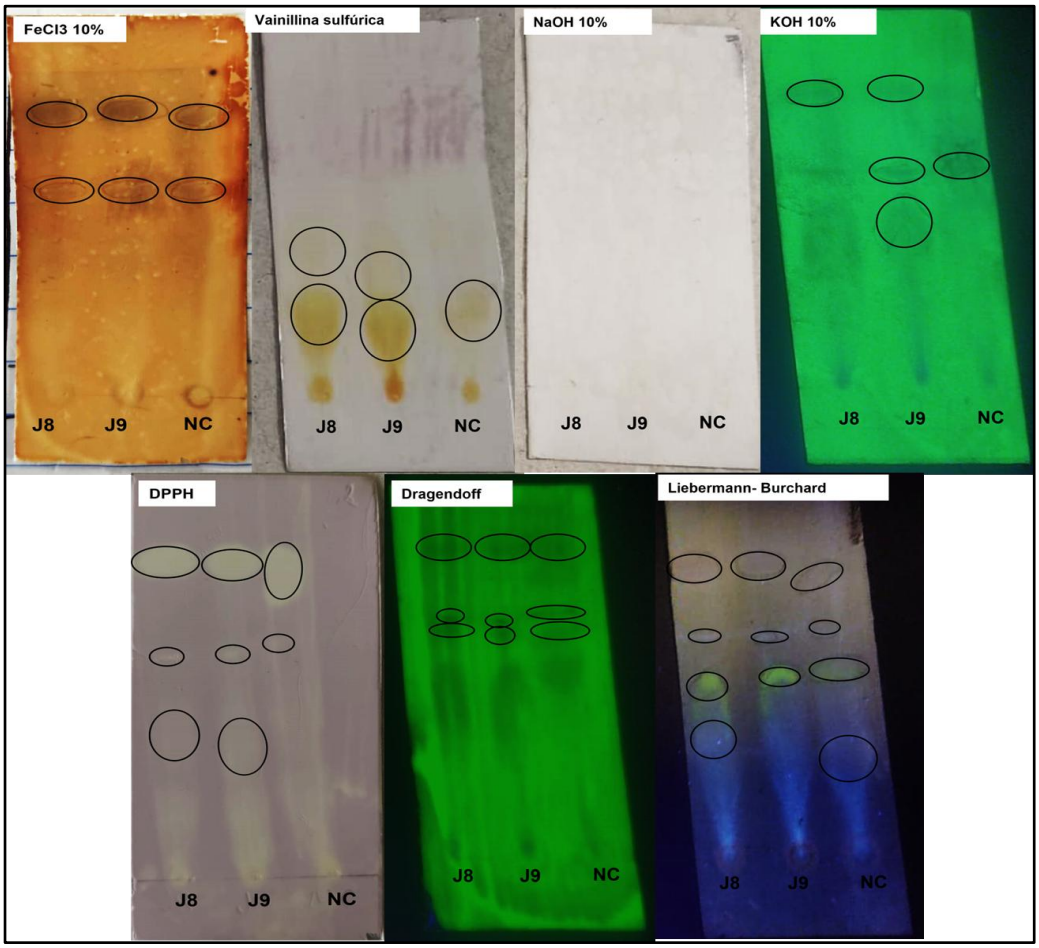


Figura 20. Cromatoplacas reveladas con $FeCl_3$ 10% (compuestos fenólicos), Vainillina sulfúrica (saponinas), NaOH 10% (antraquinonas), KOH 10% (cumarinas), DPPH (actividad antioxidante, Dragendoff (alcaloides) y Liebermann-burchard (terpenoides y/o esteroides).

Estos resultados destacan la diversidad de metabolitos secundarios presentes en los compuestos extraídos con metanol. La identificación de compuestos como fenólicos, saponinas, cumarinas, alcaloides y terpenos, junto con la destacada actividad antioxidante, resalta el potencial bioquímico de estos extractos. La intensidad del color amarillo alta observada en la actividad antioxidante sugiere la presencia de compuestos con propiedades antioxidantes.

Con base en los resultados previamente obtenidos, se concluye que el solvente de extracción más apropiado en la obtención del mayor número de compuestos con actividad antioxidante es el metanol.

8.4.2. Caracterización de los metabolitos secundarios de la biomasa total.

En consecuencia, se procedió a realizar una nueva extracción de compuestos en la biomasa total utilizando exclusivamente metanol. Estos compuestos fueron posteriormente sometidos a cromatografía en capa fina (CCF) con una fase móvil compuesta por acetonitrilo: agua en una proporción de 70%:30% la cual como se obtuvo anteriormente es la mejor mezcla eluyente. En este contexto, se repitieron las pruebas

con el fin de obtener una evaluación más precisa de los resultados.

Las cromatoplacas se revelaron con lámpara UV y sulfato cerico se muestran en la Figura 21; conforme a los valores de RF (Tabla 44 en el apartado de anexos) se nota un aumento en el número de compuestos obtenidos mediante la extracción directa con metanol, alcanzando un total de 18 compuestos totales en la complatoplaca con ambos reveladores universales, en comparación con la extracción secuencial utilizando disolventes de polaridad creciente, la cual resultó en 14 compuestos. La comparación con la extracción secuencial, en la cual la polaridad aumenta gradualmente, respalda la elección de la extracción directa con metanol como un método más exhaustivo y eficaz.

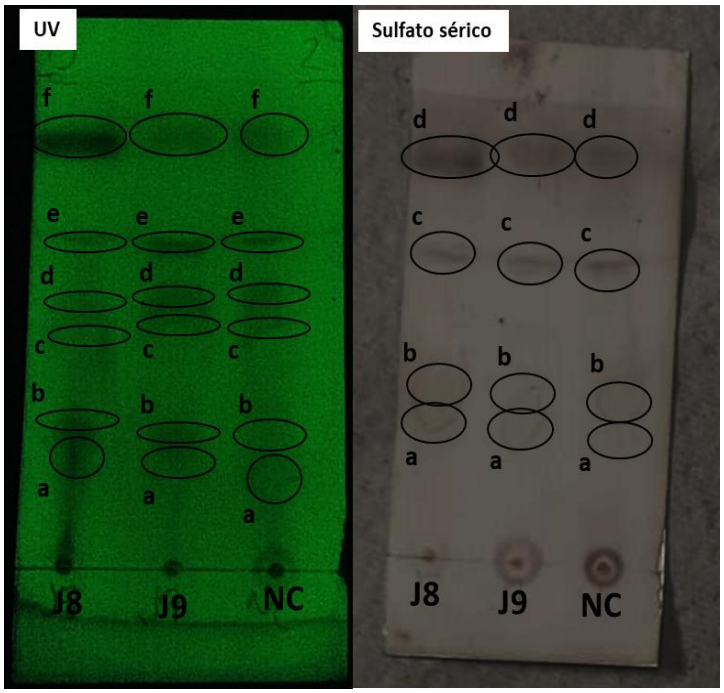


Figura 21. Cromatoplacas reveladas lampara UV y sulfato cérico en fase móvil Acetonitrilo: agua 70%:30%. Donde J8: extracto *Dietzia maris* (Joc-8), J9: extracto *Dietzia maris* (Joc-9) y NC: extracto *Nocardia corallina*.

Adicionalmente, se procedió a caracterizar nuevamente los extractos obtenidos con metanol como se presenta en la Figura 22 se notó un incremento en el número de compuestos revelados, lo cual evidencia de manera clara que la extracción directa con metanol ha conducido a una mayor diversidad de compuestos en comparación con el enfoque de extracción secuencial.

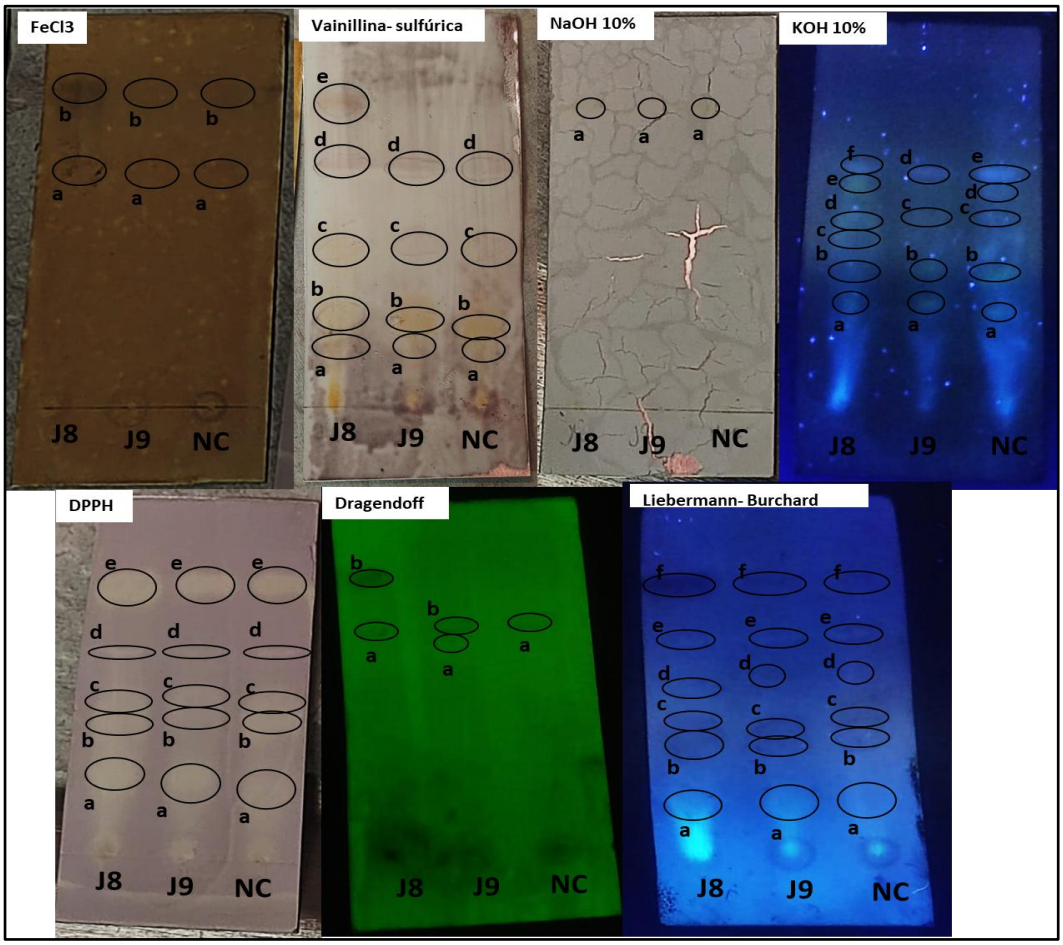


Figura 22. Cromatoplacas reveladas con $FeCl_3$ 10% (compuestos fenólicos), Vainillina sulfúrica (saponinas), NaOH 10% (antraquinonas), KOH 10% (cumarinas), DPPH (actividad antioxidante, Dragendoff (alcaloides) y Liebermann-burchard (terpenoides y/o esteroides).

8.5. Tamizaje metabólico

Los resultados presentados en la Tabla 7 revelan que los tres extractos contienen una amplia variedad de compuestos, conocidos en la literatura por su significativa actividad antioxidante. Estos resultados superan a los reportados por Takoukam et. al en 2019, quienes únicamente identificaron alcaloides y taninos en diversos extractos de *Actinobacterias* como *Nocardiopsis sp.*, *Streptomyces sp.* y *Micromonospora sp.* Por lo tanto, se confirma que *Dietzia maris* es una fuente prometedora de metabolitos secundarios que merece seguir siendo estudiada. Además, estos hallazgos confirman las observaciones obtenidas mediante cromatografía en capa fina (CCF) utilizando reveladores químicos, lo que refuerza la evidencia de la presencia de dichos compuestos.

Tabla 7. Tamizaje metabólico

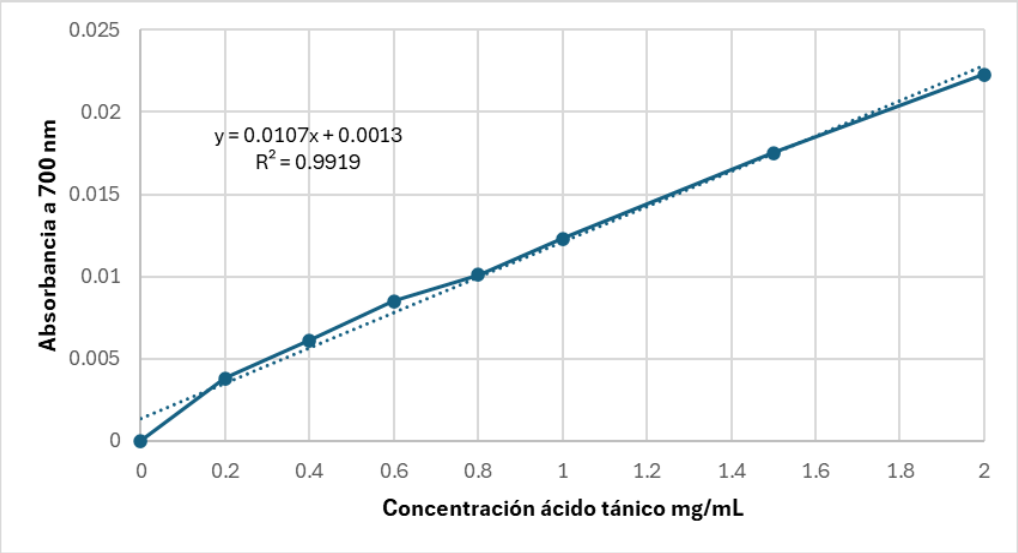
Prueba	Extracto		
	***Dietzia maris* (Joc-8)**	***Dietzia maris* (Joc-9)**	***Nocardia corallina* (*N. corallina*)**
Prueba de Brayme (Taninos)	+	+	+
Prueba de flavonoides	+	+	+
Prueba de espuma (saponinas)	+	+	+
Prueba de Molisch (carbohidratos)	+	+	+
Prueba de Liebermann (Glucósidos)	+	+	+
Prueba de cumarinas	+	+	+
Prueba de Hager (Alcaloides)	+	+	+
Prueba de Xantoproteica (Proteínas)	+	+	+
Prueba de Borntrager (Antraquinonas)	+	+	+
Prueba de Brayme (Compuestos fenólicos)	+	+	+

8.6. Cuantificación de metabolitos secundarios

Los resultados del tamizaje metabólico revelaron la presencia de una variedad de compuestos en los tres extractos metanólicos estudiados. Esta diversidad metabólica coincide con los hallazgos reportados por Salazar (2019), Zárate (2019) y Winanda (2021), quienes también trabajaron con *Actinobacterias*.

8.6.1. Taninos totales

Las absorbancias correspondientes a los taninos totales se presentan en la tabla 45 en el apartado de anexos, y se logró un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9921 (ver Gráfica 2). Este valor se considera adecuado, por lo que se puede afirmar que los valores calculados son confiables.



Gráfica 2. Curva de calibración de taninos totales a 700 nm.

De acuerdo con la tabla 8 el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) exhibió el valor más elevado en la concentración de taninos expresados como ácido tánico, con un 1.67 ± 0.05 mg/mL.

Tabla 8. Contenido de taninos totales expresado como ácido tánico (mg/mL**).**

	***Dietzia maris* (J-8)**	***Dietzia maris* (J-9)**	***Nocardia corallina* (*N. corallina*)**
1ra repetición	1.67	1.21	1.67
2da repetición	1.62	1.29	1.64
3ra repetición	1.71	1.27	1.69
Promedio	1.67	1.26	1.66
Desviación estándar	0.05	0.04	0.02

De acuerdo con el análisis estadístico realizado, se obtuvo un valor de p de < 0.0001, como se detalla en la tabla 9. Este valor es significativamente menor que el umbral establecido de 0.05, indicando una diferencia estadísticamente significativa en el contenido de taninos expresados como ácido tánico en al menos dos de ellos. De hecho, como se observa en el análisis de medias, una comparación muestra que las medias son iguales. En cuanto a la comparación de medias confirmó que los extractos

de *Dietzia maris* (Joc-8) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) exhiben la concentración más alta de taninos (Ver tabla 10 y la gráfica 3).

Tabla 9. Resultados obtenidos de análisis de varianza ANOVA de un solo factor mediante software JMP.

ANOVA de un factor

Resumen del ajuste

R cuadrado	0.974493
R cuadrado ajustado	0.96599
Raíz del error cuadrático medio	0.038297
Media de respuesta	1.53
Observaciones (o suma de pesos)	9

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Cepa	2	0.33620000	0.168100	114.6136	<.0001*
Error	6	0.00880000	0.001467		
C. Total	8	0.34500000			

Medias para ANOVA de un factor

Nivel	Número	Media	Error estándar	Extremo inferior del IC al 95%	Extremo superior del IC al 95%
Dietzia maris (J-8)	3	1.66667	0.02211	1.6126	1.7208
Dietzia maris (J-9)	3	1.25667	0.02211	1.2026	1.3108
Nocardia corallina (N. corallina)	3	1.66667	0.02211	1.6126	1.7208

El error estándar utiliza una estimación combinada de la varianza del error

Tabla 10. Resultados obtenidos de análisis de comparación de medias por software JMP.

Comparaciones de medias

Comparaciones para todos los pares mediante la prueba HSD de Tukey-Kramer

Cuantil de confianza

q*	Alpha
3.06815	0.05

Matriz del umbral de HSD

Abs. (Dif.) - HSD

	Dietzia maris (J-8)	Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-9)
Dietzia maris (J-8)	-0.09594	-0.09594	0.31406
Nocardia corallina (N. corallina)	-0.09594	-0.09594	0.31406
Dietzia maris (J-9)	0.31406	0.31406	-0.09594

Los valores positivos muestran pares de medias que son significativamente distintas.

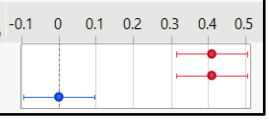
Informe de letras de unión

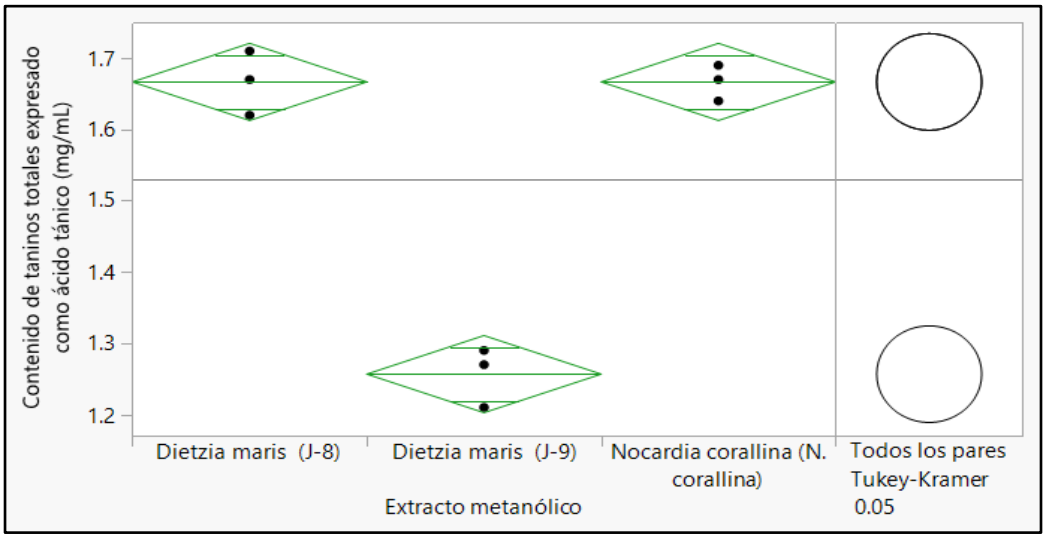
Nivel		Media
Dietzia maris (J-8)	A	1.6666667
Nocardia corallina (N. corallina)	A	1.6666667
Dietzia maris (J-9)	B	1.2566667

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente distintos.

Informe de las diferencias ordenadas

Nivel	- Nivel	Diferencia	Error estándar de la diferencia	Límite de control inferior	Límite de control superior	Valor p
Dietzia maris (J-8)	Dietzia maris (J-9)	0.4100000	0.0312694	0.314061	0.5059393	<.0001*
Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-9)	0.4100000	0.0312694	0.314061	0.5059393	<.0001*
Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-8)	0.0000000	0.0312694	-0.095939	0.0959393	1.0000

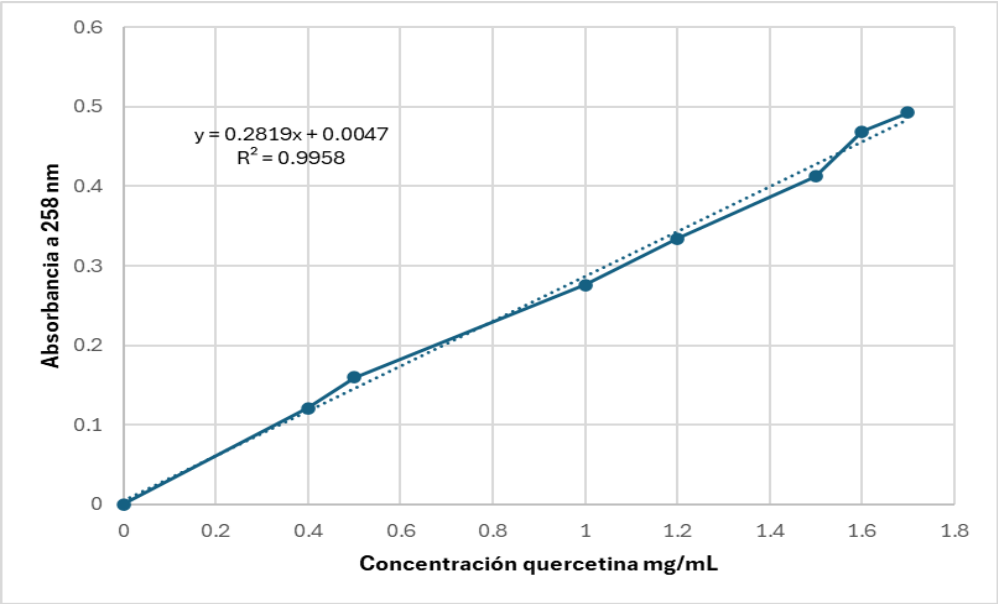




Gráfica 3. Resultados obtenidos de análisis del extracto metanólico dependiendo de la cepa por software JMP.

8.6.2. Flavonoides totales

Las absorbancias correspondientes a los flavonoides totales se presentan en la tabla 46 en el apartado de anexos, y se alcanzó un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9958 (ver Gráfica 4). Este valor se considera apropiado, asegurando así la confiabilidad de los valores calculados.



Gráfica 4. Curva de calibración de flavonoides totales a 258 nm.

En cuanto a la concentración de flavonoides expresados como quercetina el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) exhibió el valor más elevado con un 0.90 ± 0.03 mg/mL como se muestra en la tabla 11.

Tabla 11. Contenido de flavonoides totales expresado como quercetina (mg/mL).

	Dietzia maris (J-8)	*Dietzia maris* (J-9)	*Nocardia corallina* (*N. corallina*)
1ra repetición	0.93	0.43	0.11
2da repetición	0.87	0.52	0.09
3ra repetición	0.90	0.40	0.13
Promedio	0.90	0.45	0.11
Desviación estándar	0.03	0.06	0.02

De acuerdo con el análisis estadístico se obtuvo un valor de p de < 0.0001, como se detalla en la tabla 12. Este valor es significativamente inferior al umbral establecido de 0.05, lo que señala una diferencia estadísticamente significativa en el contenido de flavonoides expresados como quercetina entre los tres extractos. En cuanto a la comparación de las medias, se confirmó que el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) muestra la concentración más alta de flavonoides, como se observa en la tabla 13 y la gráfica 5. Por otro lado, el extracto metanólico de *Nocardia corallina* (*N. corallina*) exhibe el valor más bajo en este aspecto.

Tabla 12. Resultados obtenidos de análisis de varianza ANOVA de un solo factor mediante software JMP.

ANOVA de un factor

Resumen del ajuste

R cuadrado	0.989083
R cuadrado ajustado	0.985443
Raíz del error cuadrático medio	0.041633
Media de respuesta	0.486667
Observaciones (o suma de pesos)	9

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Cepa	2	0.94220000	0.471100	271.7885	<.0001*
Error	6	0.01040000	0.001733		
C. Total	8	0.95260000			

Medias para ANOVA de un factor

Nivel	Número	Media	Error estándar	Extremo inferior del IC al 95%	Extremo superior del IC al 95%
Dietzia maris (J-8)	3	0.900000	0.02404	0.84118	0.95882
Dietzia maris (J-9)	3	0.450000	0.02404	0.39118	0.50882
Nocardia corallina (N. corallina)	3	0.110000	0.02404	0.05118	0.16882

El error estándar utiliza una estimación combinada de la varianza del error

Tabla 13. Resultados obtenidos de análisis de comparación de medias por software JMP.

Comparaciones para todos los pares mediante la prueba HSD de Tukey-Kramer

Cuantil de confianza

q*	Alpha
3.06815	0.05

Matriz del umbral de HSD

Abs. (Dif.) - HSD

	Dietzia maris (J-8)	Dietzia maris (J-9)	Nocardia corallina (N. corallina)
Dietzia maris (J-8)	-0.10430	0.34570	0.68570
Dietzia maris (J-9)	0.34570	-0.10430	0.23570
Nocardia corallina (N. corallina)	0.68570	0.23570	-0.10430

Los valores positivos muestran pares de medias que son significativamente distintas.

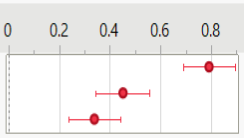
Informe de letras de unión

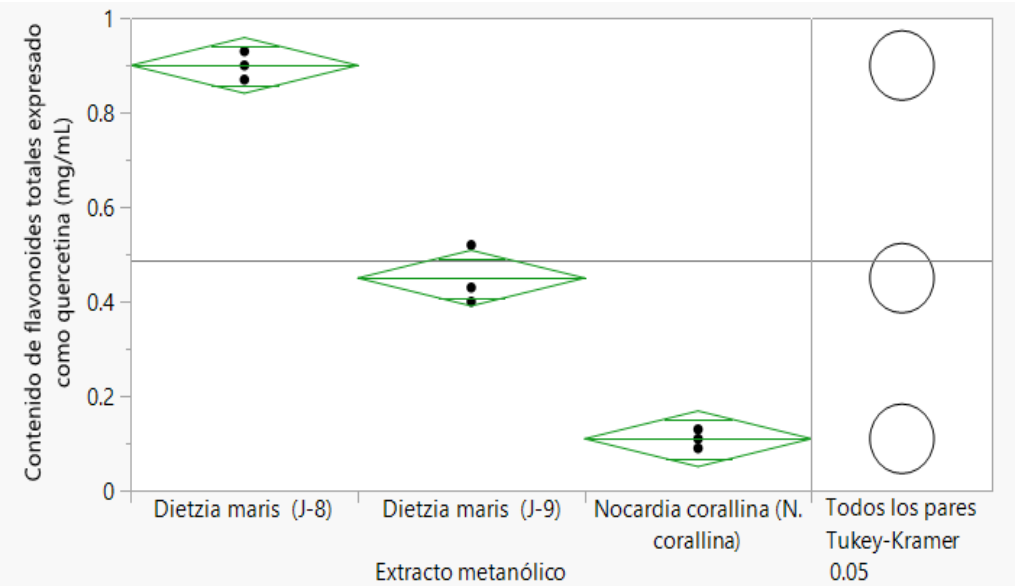
Nivel				Media
Dietzia maris (J-8)	A			0.90000000
Dietzia maris (J-9)		B		0.45000000
Nocardia corallina (N. corallina)			C	0.11000000

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente distintos.

Informe de las diferencias ordenadas

Nivel	- Nivel	Diferencia	Error estándar de la diferencia	Límite de control inferior	Límite de control superior	Valor p
Dietzia maris (J-8)	Nocardia corallina (N. corallina)	0.7900000	0.0339935	0.6857030	0.8942970	<.0001*
Dietzia maris (J-8)	Dietzia maris (J-9)	0.4500000	0.0339935	0.3457030	0.5542970	<.0001*
Dietzia maris (J-9)	Nocardia corallina (N. corallina)	0.3400000	0.0339935	0.2357030	0.4442970	0.0001*

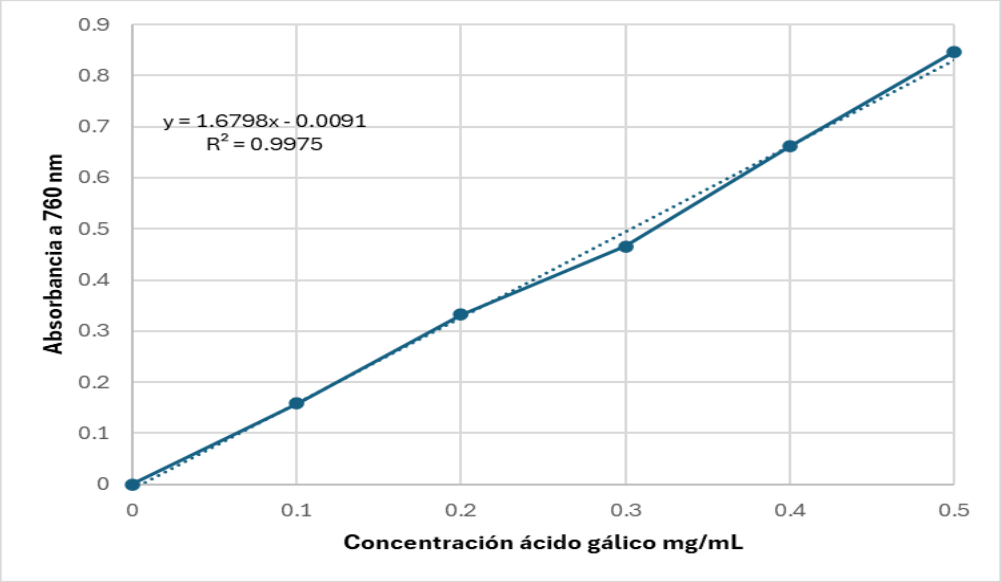




Gráfica 5. Resultados obtenidos de análisis del extracto metanólico dependiendo de la cepa por software JMP.

8.6.3. Polifenoles totales

Las absorbancias registradas a 760 nm se presentan en la tabla 47 en el apartado de anexos, y se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9975 (ver Gráfica 6). Este valor se considera apropiado, lo que garantiza la confiabilidad de los valores calculados.



Gráfica 6. Curva de calibración de fenoles totales a 760 nm**.**

De manera similar el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-9) exhibió el valor más elevado de fenoles totales expresados como ácido gálico, con un 0.8 ± 0.1 mg/mL, como se detalla en la tabla 14.

Tabla 14. Contenido de polifenoles totales expresado como ácido gálico (mg/mL).

	***Dietzia maris* (J-8)**	***Dietzia maris* (J-9)**	***Nocardia corallina* (*N. corallina*)**
1ra repetición	0.060	0.090	0.080
2da repetición	0.061	0.070	0.072
3ra repetición	0.060	0.080	0.084
Promedio	0.060	0.080	0.079
Desviación estándar	0.00	0.01	0.01

Los resultados del análisis estadístico revelaron un valor de p de 0.0209, como se detalla en la tabla 15. Esta cifra es notablemente menor que el umbral establecido de 0.05, indicando una diferencia estadísticamente significativa en el contenido de polifenoles expresados como ácido gálico en al menos dos de ellos. Además, al comparar las medias, se corroboró que los extractos de *Dietzia maris* (Joc-9) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) exhiben una concentración más elevada de polifenoles, como se evidencia en la tabla 16 y en la gráfica 7.

Tabla 15. Resultados obtenidos de análisis de varianza ANOVA de un solo factor mediante software JMP.

ANOVA de un factor

Resumen del ajuste

R cuadrado	0.724667
R cuadrado ajustado	0.632889
Raíz del error cuadrático medio	0.006774
Media de respuesta	0.073
Observaciones (o suma de pesos)	9

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Cepa	2	0.00072467	0.000362	7.8959	0.0209*
Error	6	0.00027533	0.000046		
C. Total	8	0.00100000			

Medias para ANOVA de un factor

Nivel	Número	Media	Error estándar	Extremo inferior del IC al 95%	Extremo superior del IC al 95%
Dietzia maris (J-8)	3	0.060333	0.00391	0.05076	0.06990
Dietzia maris (J-9)	3	0.080000	0.00391	0.07043	0.08957
Nocardia corallina (N. corallina)	3	0.078667	0.00391	0.06910	0.08824

El error estándar utiliza una estimación combinada de la varianza del error

Tabla 16. Resultados obtenidos de análisis de comparación de medias por software JMP.

Comparaciones para todos los pares mediante la prueba HSD de Tukey-Kramer

Cuantil de confianza

q*	Alpha
3.06815	0.05

Matriz del umbral de HSD

Abs. (Dif.) - HSD

	Dietzia maris (J-9)	Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-8)
Dietzia maris (J-9)	-0.01697	-0.01564	0.00270
Nocardia corallina (N. corallina)	-0.01564	-0.01697	0.00136
Dietzia maris (J-8)	0.00270	0.00136	-0.01697

Los valores positivos muestran pares de medias que son significativamente distintas.

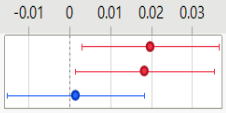
Informe de letras de unión

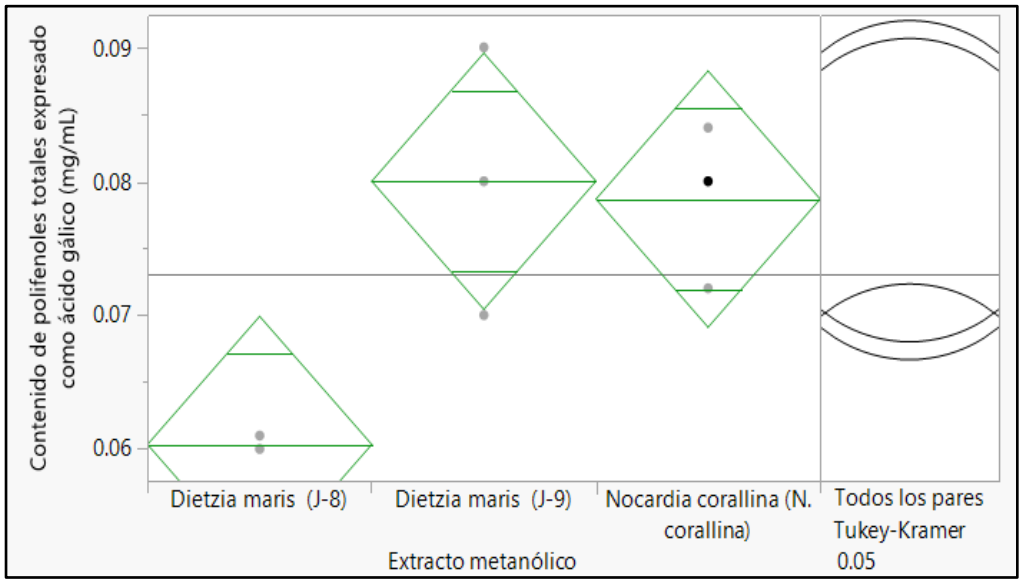
Nivel		Media
Dietzia maris (J-9)	A	0.08000000
Nocardia corallina (N. corallina)	A	0.07866667
Dietzia maris (J-8)	B	0.06033333

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente distintos.

Informe de las diferencias ordenadas

Nivel	- Nivel	Diferencia	Error estándar de la diferencia	Límite de control inferior	Límite de control superior	Valor p
Dietzia maris (J-9)	Dietzia maris (J-8)	0.0196667	0.0055311	0.002697	0.0366368	0.0278*
Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-8)	0.0183333	0.0055311	0.001363	0.0353034	0.0370*
Dietzia maris (J-9)	Nocardia corallina (N. corallina)	0.0013333	0.0055311	-0.015637	0.0183034	0.9686

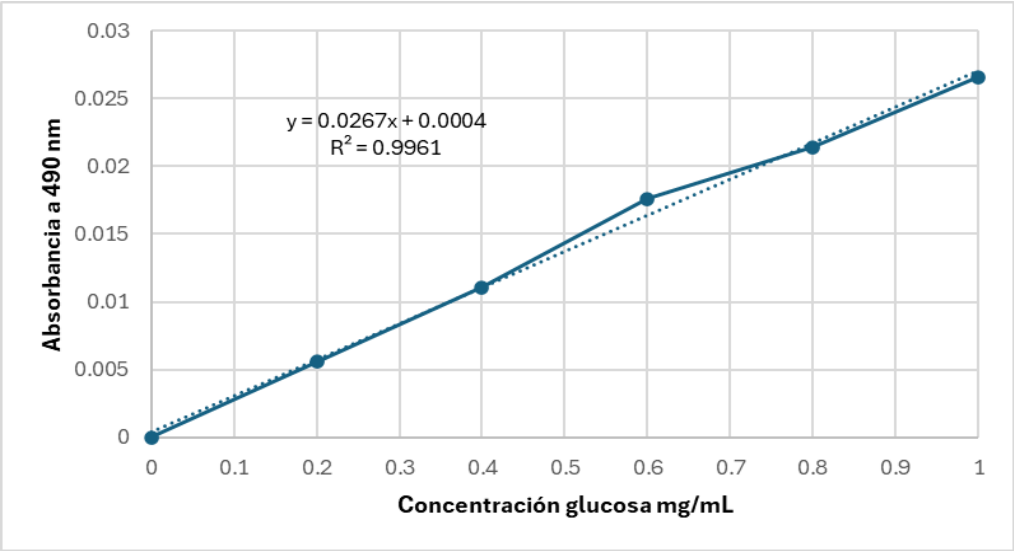




Gráfica 7. Resultados obtenidos de análisis del extracto metanólico dependiendo de la cepa por software JMP.

8.6.4. Azúcares totales

Las absorbancias registradas a 490 nm se presentan en la tabla 48 en el apartado de anexos, y se alcanzó un coeficiente de determinación (R^2) de 0.996 (ver Gráfica 8). Este valor se considera apropiado, garantizando la confiabilidad de los valores calculados.



Gráfica 8. Curva de calibración de azúcares totales a 490 nm.

De manera similar el extracto metanólico *Dietzia maris* (Joc-8) exhibió el valor más elevado de concentración de azúcares totales expresados como glucosa, con un 0.79 ± 0.0 mg/mL, según se detalla en la tabla 17.

Tabla 17. Contenido de azúcares totales expresado como glucosa (mg/mL).

	***Dietzia maris* (J-8)**	***Dietzia maris* (J-9)**	***Nocardia corallina* (*N. corallina*)**
1ra repetición	0.79	0.46	0.49
2da repetición	0.79	0.45	0.50
3ra repetición	0.79	0.43	0.52
Promedio	0.79	0.44	0.51
Desviación estándar	0.00	0.02	0.02

De acuerdo con el análisis estadístico se obtuvo un valor de p de < 0.0001, como se describe en la tabla 18. Esta cifra es notablemente menor que el umbral establecido de 0.05, indicando una diferencia estadísticamente significativa en el contenido de azúcares expresados como glucosa entre los tres extractos. Además, al comparar las medias, se corroboró que el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) exhibe la concentración más elevada de azúcares, como se evidencia en la tabla 19 y en la gráfica 9. Además, se observó que el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-9) exhibe el valor más bajo en cuanto a la concentración de azúcares.

Tabla 18. Resultados obtenidos de análisis de varianza ANOVA de un solo factor mediante software JMP.

ANOVA de un factor

Resumen del ajuste

R cuadrado	0.995429
R cuadrado ajustado	0.993906
Raíz del error cuadrático medio	0.012472
Media de respuesta	0.58
Observaciones (o suma de pesos)	9

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Cepa	2	0.20326667	0.101633	653.3571	<.0001*
Error	6	0.00093333	0.000156		
C. Total	8	0.20420000			

Medias para ANOVA de un factor

Nivel	Número	Media	Error estándar	Extremo inferior del IC al 95%	Extremo superior del IC al 95%
Dietzia maris (J-8)	3	0.790000	0.00720	0.77238	0.80762
Dietzia maris (J-9)	3	0.446667	0.00720	0.42905	0.46429
Nocardia corallina (N. corallina)	3	0.503333	0.00720	0.48571	0.52095

El error estándar utiliza una estimación combinada de la varianza del error

Tabla 19. Resultados obtenidos de análisis de comparación de medias por software JMP.

Comparaciones para todos los pares mediante la prueba HSD de Tukey-Kramer

Cuantil de confianza

q*	Alpha
3.06815	0.05

Matriz del umbral de HSD

Abs. (Dif.) - HSD

	Dietzia maris (J-8)	Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-9)
Dietzia maris (J-8)	-0.03124	0.25542	0.31209
Nocardia corallina (N. corallina)	0.25542	-0.03124	0.02542
Dietzia maris (J-9)	0.31209	0.02542	-0.03124

Los valores positivos muestran pares de medias que son significativamente distintas.

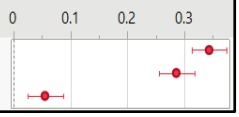
Informe de letras de unión

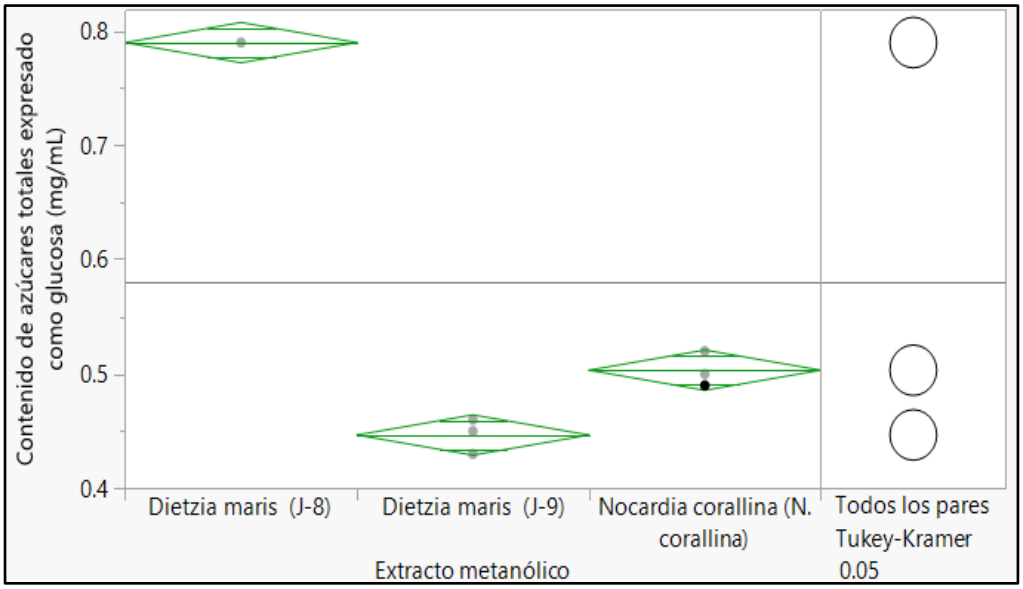
Nivel			Media
Dietzia maris (J-8)	A		0.79000000
Nocardia corallina (N. corallina)		B	0.50333333
Dietzia maris (J-9)		C	0.44666667

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente distintos.

Informe de las diferencias ordenadas

Nivel	- Nivel	Diferencia	Error estándar de la diferencia	Límite de control inferior	Límite de control superior	Valor p
Dietzia maris (J-8)	Dietzia maris (J-9)	0.3433333	0.0101835	0.3120888	0.3745778	<.0001*
Dietzia maris (J-8)	Nocardia corallina (N. corallina)	0.2866667	0.0101835	0.2554222	0.3179112	<.0001*
Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-9)	0.0566667	0.0101835	0.0254222	0.0879112	0.0034*

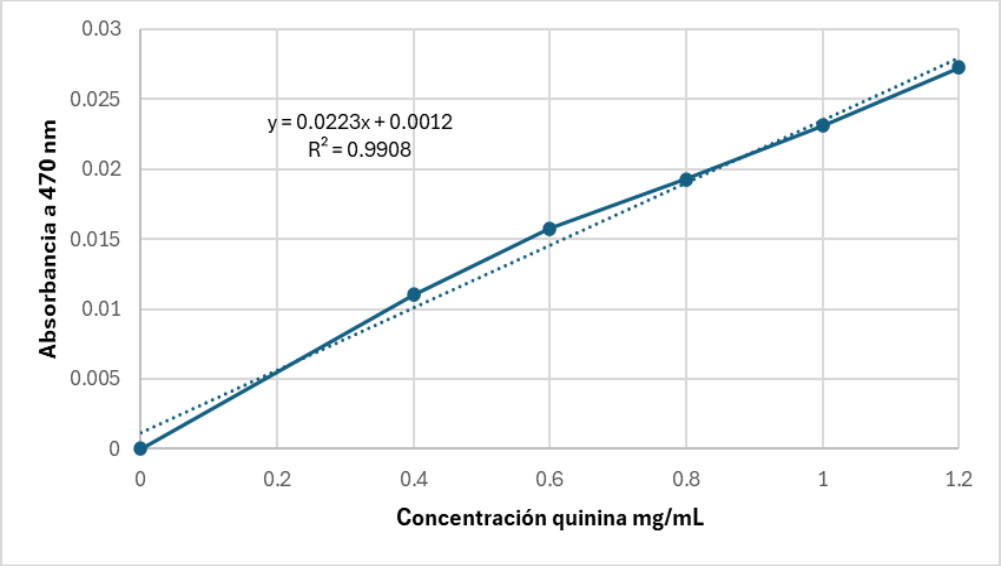




Gráfica 9. Resultados obtenidos de análisis del extracto metanólico dependiendo de la cepa por software JMP.

8.6.5. Alcaloides totales

Las absorbancias registradas a 470 nm se presentan en la tabla 49 en el apartado de anexos, y se alcanzó un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9908 (ver Gráfica 10). Este valor se considera apropiado, garantizando la confiabilidad de los valores calculados.



Gráfica 10. Curva de calibración de alcaloides totales a 470 nm.

Conforme a los resultados obtenidos el extracto metanólico de *Nocardia corallina* (*N. corallina*) exhibió el valor más elevado de alcaloides totales expresados como quinina, con un 1 ± 0.07 mg/mL, según se detalla en la tabla 20.

Tabla 20. Contenido de alcaloides totales expresado como quinina (mg/mL).

	***Dietzia maris* (J-8)**	***Dietzia maris* (J-9)**	***Nocardia corallina* (*N. corallina*)**
1ra repetición	0.78	0.04	1.00
2da repetición	0.81	0.16	1.07
3ra repetición	0.81	0.16	0.93
Promedio	0.80	0.12	1.00
Desviación estándar	0.02	0.07	0.07

Según los análisis estadísticos, se obtuvo un valor de p de < 0.0001, como se detalla en la tabla 21. Esta cifra es notablemente menor que el umbral establecido de 0.05, indicando una diferencia estadísticamente significativa en el contenido de alcaloides expresados como quinina entre los tres extractos. Además, en cuanto a la comparación de medias se corroboró que el extracto metanólico de *Nocardia corallina* (*N. corallina*) exhibe la concentración más elevada de alcaloides, como se evidencia en la tabla 22 y en la gráfica 11. Además, se observó que el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-

9) exhibe el valor más bajo en cuanto a la concentración de alcaloides.

Tabla 21. Resultados obtenidos de análisis de varianza ANOVA de un solo factor mediante software JMP.

ANOVA de un factor

Resumen del ajuste

R cuadrado	0.984577
R cuadrado ajustado	0.979437
Raíz del error cuadrático medio	0.057735
Media de respuesta	0.64
Observaciones (o suma de pesos)	9

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Cepa	2	1.2768000	0.638400	191.5200	<.0001*
Error	6	0.0200000	0.003333		
C. Total	8	1.2968000			

Medias para ANOVA de un factor

Nivel	Número	Media	Error estándar	Extremo inferior del IC al 95%	Extremo superior del IC al 95%
Dietzia maris (J-8)	3	0.80000	0.03333	0.71844	0.8816
Dietzia maris (J-9)	3	0.12000	0.03333	0.03844	0.2016
Nocardia corallina (N. corallina)	3	1.00000	0.03333	0.91844	1.0816

El error estándar utiliza una estimación combinada de la varianza del error

Tabla 22. Resultados obtenidos de análisis de comparación de medias por software JMP.

Comparaciones para todos los pares mediante la prueba HSD de Tukey-Kramer

Cuantil de confianza

q*	Alpha
3.06815	0.05

Matriz del umbral de HSD

Abs. (Dif.) - HSD

	Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-8)	Dietzia maris (J-9)
Nocardia corallina (N. corallina)	-0.14463	0.05537	0.73537
Dietzia maris (J-8)	0.05537	-0.14463	0.53537
Dietzia maris (J-9)	0.73537	0.53537	-0.14463

Los valores positivos muestran pares de medias que son significativamente distintas.

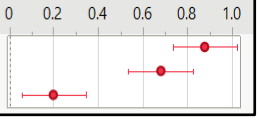
Informe de letras de unión

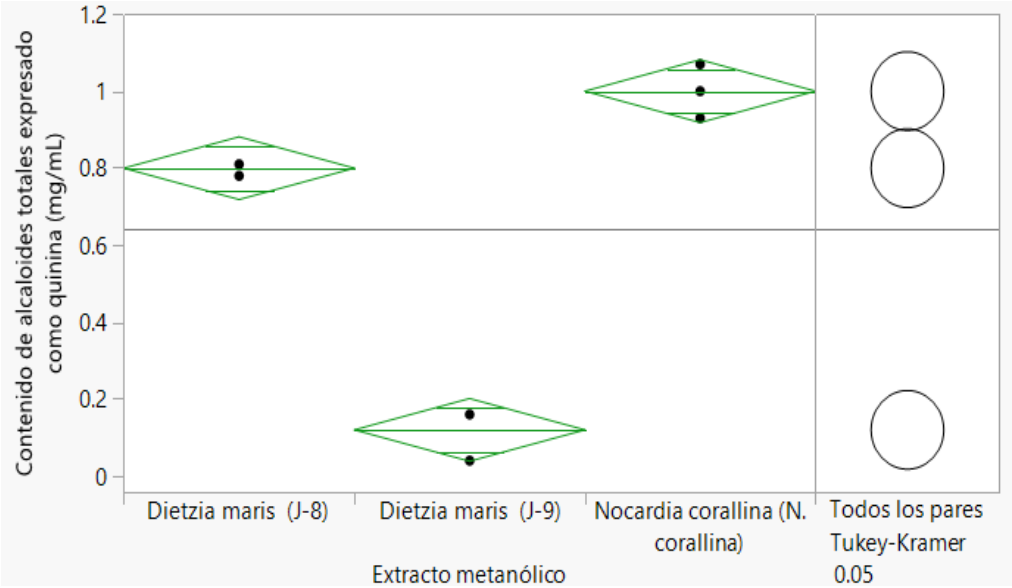
Nivel		Media
Nocardia corallina (N. corallina)	A	1.0000000
Dietzia maris (J-8)	B	0.8000000
Dietzia maris (J-9)	C	0.1200000

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente distintos.

Informe de las diferencias ordenadas

Nivel	- Nivel	Diferencia	Error estándar de la diferencia	Límite de control inferior	Límite de control superior	Valor p
Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-9)	0.8800000	0.0471405	0.7353661	1.024634	<.0001*
Dietzia maris (J-8)	Dietzia maris (J-9)	0.6800000	0.0471405	0.5353661	0.824634	<.0001*
Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-8)	0.2000000	0.0471405	0.0553661	0.344634	0.0128*

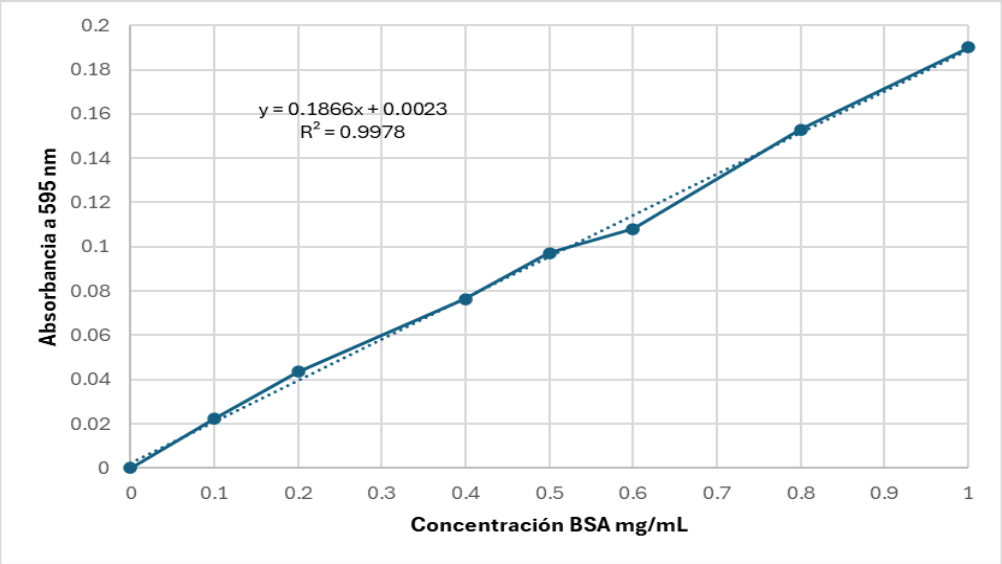




Gráfica 11. Resultados obtenidos de análisis del extracto metanólico dependiendo de la cepa por software JMP.

8.6.6. Proteínas totales

Las absorbancias registradas a 595 nm se presentan en la tabla 50 en el apartado de anexos, y se logró un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9977 (ver Gráfica 12). Este valor se considera apropiado, garantizando así la confiabilidad de los valores calculados.



Gráfica 12. Curva de calibración de proteínas totales a 595 nm.

Acorde a los resultados el extracto metanólico de *Nocardia corallina* (*N. corallina*) presentó el valor más elevado en la concentración de proteínas totales expresado como albúmina de suero bovina (BSA por sus siglas en ingles), con un 0.046 ± 0.005 mg/mL, según se detalla en la tabla 23.

Tabla 23. Contenido de proteínas totales expresado como BSA (mg/mL).

	***Dietzia maris* (J-8)**	***Dietzia maris* (J-9)**	***Nocardia corallina* (*N. corallina*)**
1ra repetición	0.010	0.020	0.050
2da repetición	0.009	0.036	0.048
3ra repetición	0.013	0.030	0.040
Promedio	0.011	0.029	0.046
Desviación estándar	0.002	0.008	0.005

De acuerdo con el análisis estadístico se obtuvo un valor de p de 0.0008, como se describe en la tabla 24. Esta cifra es notablemente menor que el establecido de 0.05, indicando una diferencia estadísticamente significativa en el contenido de proteínas expresadas como BSA entre los tres extractos. En cuanto a la comparación de medias, se corroboró que el extracto metanólico *Nocardia corallina* exhibe la concentración más elevada de proteínas, como se evidencia en la tabla 25 y en la gráfica 13. Además, se observó que el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) exhibe el valor más bajo en cuanto a la concentración de alcaloides.

Tabla 24. Resultados obtenidos de análisis de varianza ANOVA de un solo factor mediante software JMP.

ANOVA de un factor

Resumen del ajuste

R cuadrado	0.905555
R cuadrado ajustado	0.874073
Raíz del error cuadrático medio	0.005706
Media de respuesta	0.028444
Observaciones (o suma de pesos)	9

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Cepa	2	0.00187289	0.000936	28.7645	0.0008*
Error	6	0.00019533	0.000033		
C. Total	8	0.00206822			

Medias para ANOVA de un factor

Nivel	Número	Media	Error estándar	Extremo inferior del IC al 95%	Extremo superior del IC al 95%
Dietzia maris (J-8)	3	0.010667	0.00329	0.00261	0.01873
Dietzia maris (J-9)	3	0.028667	0.00329	0.02061	0.03673
Nocardia corallina (N. corallina)	3	0.046000	0.00329	0.03794	0.05406

El error estándar utiliza una estimación combinada de la varianza del error

Tabla 25. Resultados obtenidos de análisis de comparación de medias por software JMP.

Comparaciones para todos los pares mediante la prueba HSD de Tukey-Kramer

Cuantil de confianza

q*	Alpha
3.06815	0.05

Matriz del umbral de HSD

Abs. (Dif.) - HSD

	Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-9)	Dietzia maris (J-8)
Nocardia corallina (N. corallina)	-0.01429	0.00304	0.02104
Dietzia maris (J-9)	0.00304	-0.01429	0.00371
Dietzia maris (J-8)	0.02104	0.00371	-0.01429

Los valores positivos muestran pares de medias que son significativamente distintas.

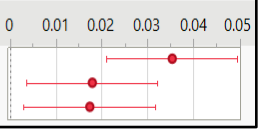
Informe de letras de unión

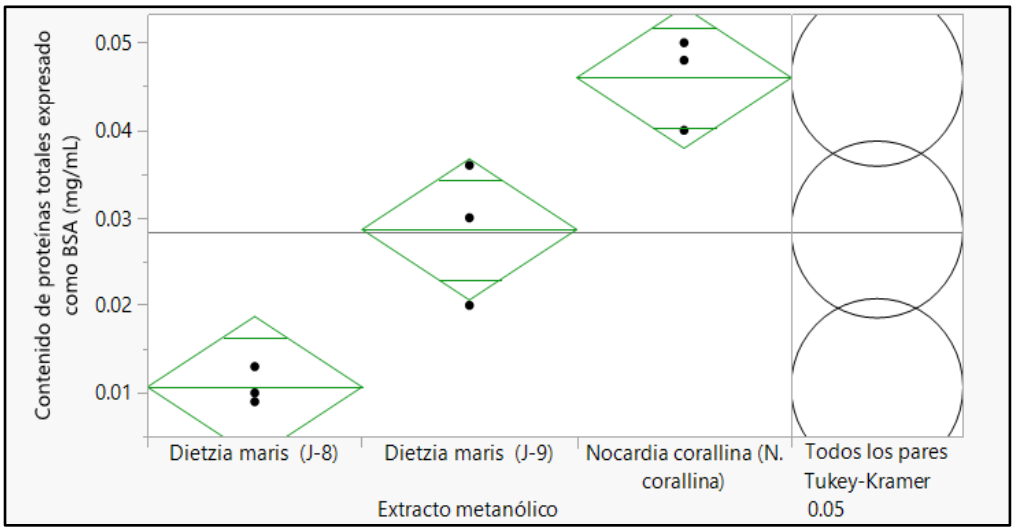
Nivel			Media
Nocardia corallina (N. corallina)	A		0.04600000
Dietzia maris (J-9)		B	0.02866667
Dietzia maris (J-8)		C	0.01066667

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente distintos.

Informe de las diferencias ordenadas

Nivel	- Nivel	Diferencia	Error estándar de la diferencia	Límite de control inferior	Límite de control superior	Valor p
Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-8)	0.0353333	0.0046587	0.0210397	0.0496270	0.0007*
Dietzia maris (J-9)	Dietzia maris (J-8)	0.0180000	0.0046587	0.0037063	0.0322937	0.0195*
Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (J-9)	0.0173333	0.0046587	0.0030397	0.0316270	0.0230*





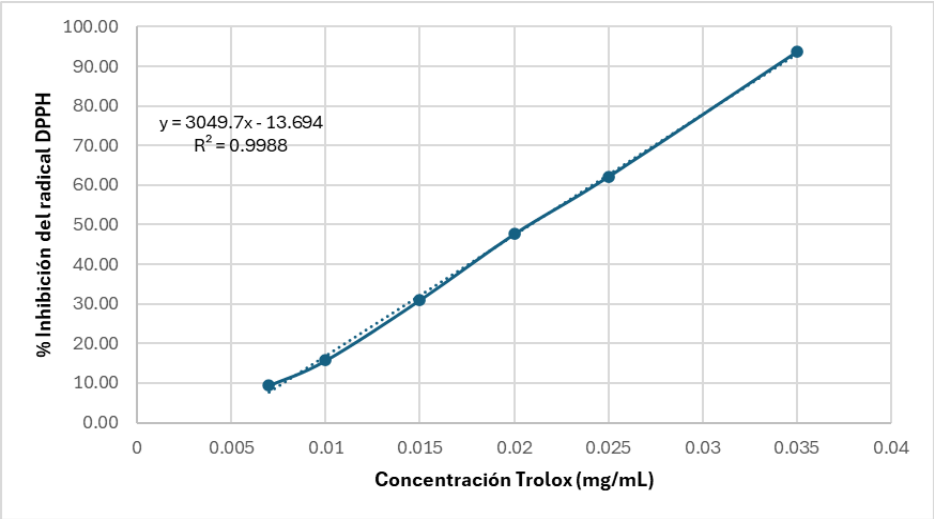
Gráfica 13. Resultados obtenidos de análisis del extracto metanólico dependiendo de la cepa por software JMP.

8.7. Actividad antioxidante

8.7.1. Método DPPH

Utilizando los resultados obtenidos, se determinó el porcentaje de inhibición del radical DPPH. Entre los extractos metanólicos evaluados, destaca el de *Dietzia maris* (Joc-8) por mostrar la mayor actividad antioxidante, con un notable porcentaje de inhibición del radical de 86.27 ± 0.010% en donde 0.033 mg/mL de este son equivalentes a Trolox. Le sigue *Nocardia corallina* (*N. corallina*), con un valor de inhibición de 85.96 ± 0.014%,

siendo también 0.033 mg/mL de esta muestra equivalentes a Trolox. Ambos extractos se destacan significativamente como los más efectivos en la reducción del radical DPPH y, por ende, presentan la mayor actividad antioxidante. Sin embargo, en contraste, el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-9) muestra un porcentaje de inhibición de 82.38 ± 0.004%, en donde 0.032 mg/mL de esta muestra son equivalentes a Trolox. Estos resultados, comparados con la literatura, muestran una capacidad antioxidante superior a la reportada por Ortega et. al en 2016, donde se obtuvo un 65% de actividad antioxidante en la actinobacteria *Gordonia* sp. Asimismo, superan los valores obtenidos por Kannan et. al en 2023, quienes reportaron un 63% de actividad antioxidante en *Streptomyces* sp.



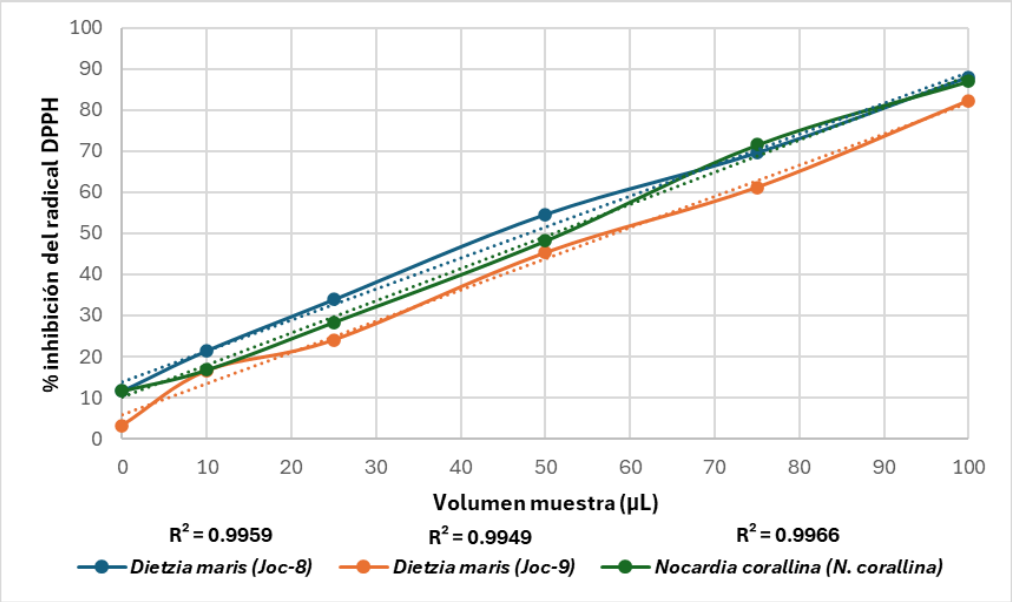
Gráfica 14. Curva de calibración de sustancia patrón trolox a 517 nm.

Tabla 26. Resultados de la absorbancia a 517 nm en 30 min de los extractos metanólicos con radical DPPH.

Extracto	Repetición			Promedio	Desviación estándar	% inhibición del radical DPPH	mg/mL equivalentes de trolox
	1ra	2da	3ra				
Dietzia maris (Joc-8)	0.188	0.169	0.183	0.180	0.010	86.27	0.033
Dietzia maris (Joc-9)	0.234	0.227	0.232	0.231	0.004	82.38	0.032
Nocardia corallina (*N. corallina*)	0.196	0.168	0.188	0.184	0.014	85.96	0.033

En la curva de inhibición del radical, se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) de

0.99 para los tres extractos evaluados (ver Tabla 51 en el apartado de anexos), lo que indica una tendencia lineal consistente, como se muestra en la Gráfica 15. Estos valores, al ser aceptables, permiten inferir que los resultados son confiables.



Gráfica 15. Curva de los extractos metanólicos de *Dietzia maris* (Joc-8), Dietzia *maris* (Joc-9) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) a 517 nm.

Tabla 27. Resultados de la actividad antioxidante.

Extracto metanólico	Volumen necesario para disminuir al 50% el radical DPPH (µL)
Dietzia maris (Joc-8)	47.96 ± 0.024
Dietzia maris (Joc-9)	58.07 ± 0.010
Nocardia corallina (*N. corallina*)	51.09 ± 0.035

De acuerdo con la tabla 27 el extracto con menor valor es el de *Dietzia maris* (Joc-8) con 47.96 µL en donde 0.021 mg/mL de este extracto equivalen a Trolox, por lo tanto, es la que tiene mayor actividad antioxidante a comparación con los otros dos extractos. Sin embargo, la que tiene menor actividad antioxidante es el extracto de *Dietzia maris* (Joc-9) con un valor de 58.07 µL.

8.7.1.1. Análisis estadístico

Según los resultados del análisis estadístico el valor de p obtenido es de 0.0016 (Tabla 28), siendo inferior a 0.05. Esto indica que hay una diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de actividad antioxidante entre los tres extractos.

Tabla 28. Resultados obtenidos de análisis de varianza ANOVA de un solo factor mediante software JMP.

ANOVA de un factor

Resumen del ajuste

R cuadrado	0.883489
R cuadrado ajustado	0.844653
Raíz del error cuadrático medio	0.786419
Media de respuesta	84.87111
Observaciones (o suma de pesos)	9

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Cepa	2	28.138156	14.0691	22.7487	0.0016*
Error	6	3.710733	0.6185		
C. Total	8	31.848889			

Medias para ANOVA de un factor

Nivel	Número	Media	Error estándar	Extremo inferior del IC al 95%	Extremo superior del IC al 95%
Dietzia maris (Joc-8)	3	86.2700	0.45404	85.159	87.381
Dietzia maris (Joc-9)	3	82.3767	0.45404	81.266	83.488
Nocardia corallina (N. corallina)	3	85.9667	0.45404	84.856	87.078

El error estándar utiliza una estimación combinada de la varianza del error

Por ende, al realizar un análisis de comparación de medias entre muestras, se obtuvo como resultado que hay una diferencia significativa en la comparación entre los extractos de *Dietzia maris* (Joc-8)-*Dietzia maris* (Joc-9), así como entre *Nocardia corallina* (*N. corallina*)-*Dietzia maris* (Joc-9), con valores de p de 0.002 y 0.0034 respectivamente el cual es inferior a 0.05 (Tabla 29). En consecuencia, se puede concluir que el extracto de *Dietzia maris* (Joc-9) exhibe un menor valor de actividad antioxidante, lo cual no favorece la síntesis de nanopartículas de plata, como se evidencia en la Gráfica 16.

Tabla 29. Resultados obtenidos de análisis de comparación de medias por software JMP.

Comparaciones para todos los pares mediante la prueba HSD de Tukey-Kramer

Cuantil de confianza

q*	Alpha
3.06815	0.05

Matriz del umbral de HSD

Abs. (Dif.) - HSD

	Dietzia maris (Joc-8)	Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (Joc-9)
Dietzia maris (Joc-8)	-1.9701	-1.6668	1.9232
Nocardia corallina (N. corallina)	-1.6668	-1.9701	1.6199
Dietzia maris (Joc-9)	1.9232	1.6199	-1.9701

Los valores positivos muestran pares de medias que son significativamente distintas.

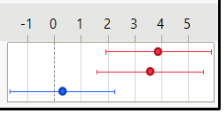
Informe de letras de unión

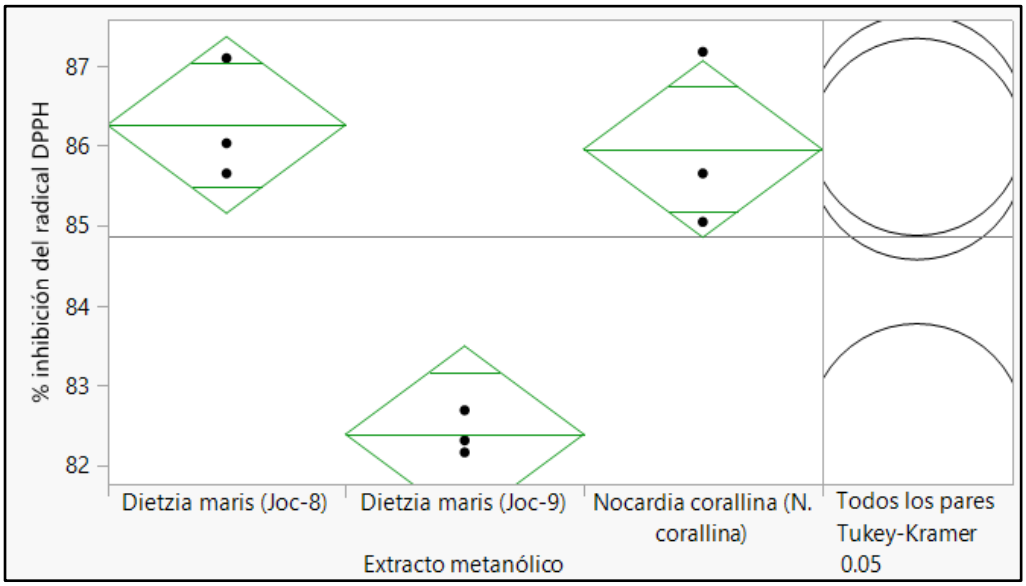
Nivel		Media
Dietzia maris (Joc-8)	A	86.270000
Nocardia corallina (N. corallina)	A	85.966667
Dietzia maris (Joc-9)	B	82.376667

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente distintos.

Informe de las diferencias ordenadas

Nivel	- Nivel	Diferencia	Error estándar de la diferencia	Límite de control inferior	Límite de control superior	Valor p
Dietzia maris (Joc-8)	Dietzia maris (Joc-9)	3.893333	0.6421088	1.92325	5.863419	0.0022*
Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (Joc-9)	3.590000	0.6421088	1.61991	5.560086	0.0034*
Dietzia maris (Joc-8)	Nocardia corallina (N. corallina)	0.303333	0.6421088	-1.66675	2.273419	0.8865

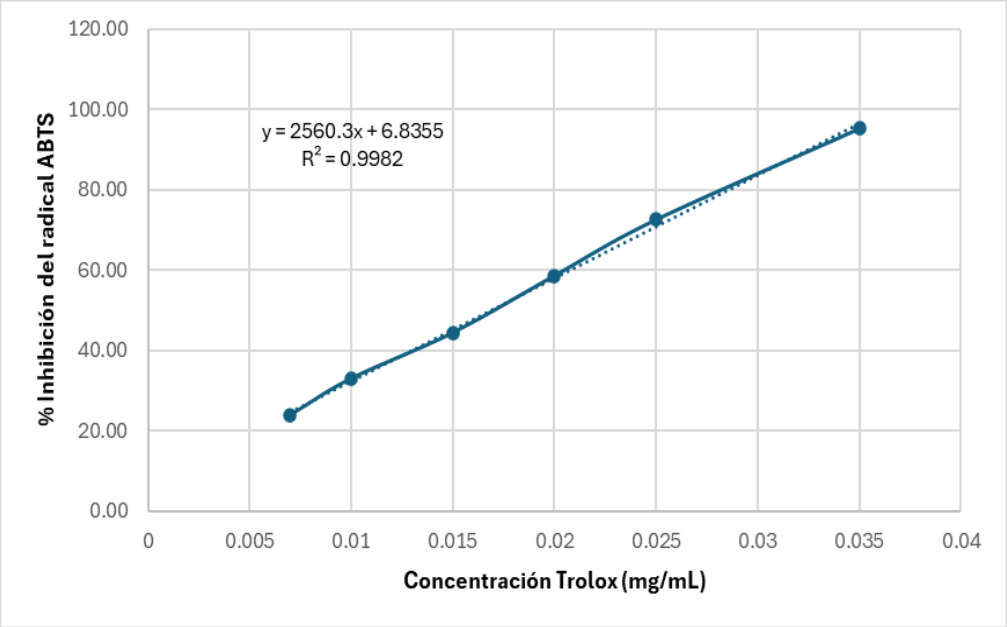




Gráfica 16. Resultados obtenidos de análisis del extracto metanólico dependiendo de la cepa por software JMP.

8.7.2. Método ABTS

Según los resultados obtenidos, se determinó el porcentaje de inhibición del radical $ABTS^{+}$. Entre los extractos, el de *Dietzia maris* (Joc-8) exhibió el mayor porcentaje de inhibición del radical o actividad antioxidante, con un valor de 70.33 ± 0.007%, equivalente a 0.025 mg/mL de trolox. En segundo lugar, el extracto metanólico de *Nocardia corallina* (*N. corallina*) con un porcentaje de inhibición del 70.23 ± 0.003%, con 0.025 mg/mL equivalentes a trolox. En contraste, el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-9) registró un porcentaje de inhibición de 65.91 ± 0.017%, con 0.023 mg/mL como equivalente de trolox. Estos resultados sugieren que el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-9) tiene una capacidad limitada para reducir el radical ABTS, manifestando una actividad antioxidante relativamente baja en comparación. Estos resultados en comparación con la literatura demuestran una capacidad antioxidante superior a la reportada por De Arruda en 2021, donde se obtuvo un 50% de actividad antioxidante en la actinobacteria *Streptomyces* sp. Asimismo, superan los valores obtenidos por Kannan et. al en 2023, quienes reportaron un 62% de actividad antioxidante en *Streptomyces* sp.

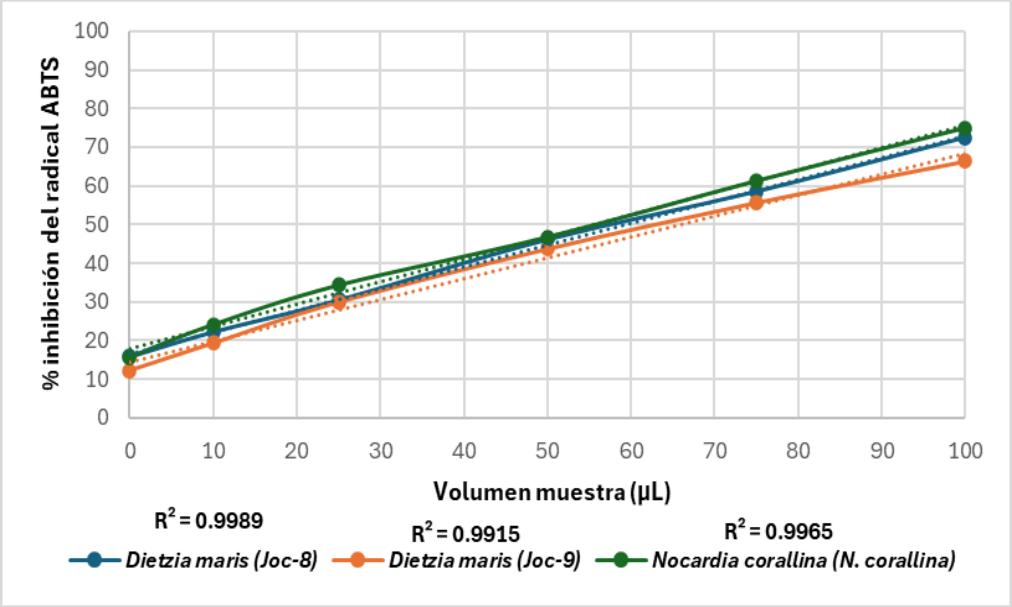


Gráfica 17. Curva de calibración de sustancia patrón trolox a 754 nm.

Tabla 30. Resultados de la absorbancia a 754 nm en 10 min de los extractos metanólicos con radical $ABTS^+$

Extracto	Repetición			Promedio	Desviación estándar	% inhibición del radical $ABTS^+$	mg/mL equivalentes de trolox
	1ra	2da	3ra				
Dietzia maris (Joc-8)	0.205	0.216	0.203	0.208	0.007	70.33	0.025
Dietzia maris (Joc-9)	0.254	0.221	0.242	0.239	0.017	65.91	0.023
Nocardia corallina (*N. corallina*)	0.205	0.210	0.211	0.209	0.003	70.23	0.025

En cuanto a los resultados de inhibición del radical se logró un coeficiente de determinación (R^2) de 0.99 (ver Tabla 52 en el apartado de anexos) en los tres extractos, indicando una tendencia lineal consistente, como se observa en la Gráfica 18. Dado que estos valores son aceptables, se puede inferir que los resultados son confiables.



Gráfica 18. Curva de los extractos metanólicos *Dietzia maris* (Joc-8), Dietzia *maris* (Joc-9) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) a 754 nm.

Tabla 31. Resultados de la actividad antioxidante.

Extracto metanólico	Volumen necesario para disminuir al 50% el radical $ABTS^+$ (µL)
Dietzia maris (Joc-8)	59.39 ± 0.008
Dietzia maris (Joc-9)	65.69 ± 0.019
Nocardia corallina (*N. corallina*)	55.67 ± 0.020

La actividad antioxidante se cuantifica mediante el valor de IC_{50}, que representa la cantidad del extracto necesaria para reducir en un 50% la concentración inicial del radical $ABTS^+$. En términos prácticos, cuanto menor sea el valor de IC_{50}, mayor será la actividad antioxidante del compuesto. Según la Tabla 31, el extracto metanólico de *Nocardia corallina* (*N. corallina*) exhibe el valor más bajo con 55.67 µL de extracto en donde 0.017 mg/mL de este extracto equivalen a Trolox, indicando la mayor actividad antioxidante entre los tres extractos evaluados. En contraste, el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-9) presenta el valor más alto de IC_{50}, con 65.69 µL de extracto, indicando una menor actividad antioxidante en comparación con los otros extractos.

8.7.2.1. Análisis estadístico

De acuerdo con los resultados el valor de p obtenido es de 0.0184 (Tabla 32), siendo inferior a 0.05. Esto indica que existe una diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de actividad antioxidante entre los tres extractos.

Tabla 32. Resultados obtenidos de análisis de varianza ANOVA de un solo factor mediante software JMP

ANOVA de un factor

Resumen del ajuste

R cuadrado	0.736054
R cuadrado ajustado	0.648072
Raíz del error cuadrático medio	1.512863
Media de respuesta	68.82333
Observaciones (o suma de pesos)	9

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Extracto	2	38.295267	19.1476	8.3660	0.0184*
Error	6	13.732533	2.2888		
C. Total	8	52.027800			

Medias para ANOVA de un factor

Nivel	Número	Media	Error estándar	Extremo inferior del IC al 95%	Extremo superior del IC al 95%
Dietzia maris (Joc-8)	3	70.3300	0.87345	68.193	72.467
Dietzia maris (Joc-9)	3	65.9067	0.87345	63.769	68.044
Nocardia corallina (N. corallina)	3	70.2333	0.87345	68.096	72.371

El error estándar utiliza una estimación combinada de la varianza del error

Como resultado de un análisis de comparación de medias entre las muestras, se evidenció una diferencia significativa al comparar los extractos de *Dietzia maris* (Joc-8) y *Dietzia maris* (Joc-9), así como entre *Nocardia corallina* (*N. corallina*) y *Dietzia maris* (Joc-9), con valores de p de 0.0270 y 0.0296 respectivamente el cual es inferior a 0.05 (Tabla 33). En consecuencia, se concluye que el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-9) exhibe un menor valor de actividad antioxidante, lo que no favorece la síntesis de nanopartículas de plata, según se observa en la gráfica 19.

Tabla 33. Resultados obtenidos de análisis de comparación de medias por software JMP.

Comparaciones para todos los pares mediante la prueba HSD de Tukey-Kramer

Cuantil de confianza

q*	Alpha
3.06815	0.05

Matriz del umbral de HSD

Abs. (Dif.) - HSD

	Dietzia maris (Joc-8)	Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (Joc-9)
Dietzia maris (Joc-8)	-3.7899	-3.6933	0.6334
Nocardia corallina (N. corallina)	-3.6933	-3.7899	0.5367
Dietzia maris (Joc-9)	0.6334	0.5367	-3.7899

Los valores positivos muestran pares de medias que son significativamente distintas.

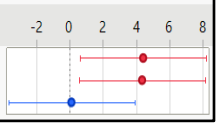
Informe de letras de unión

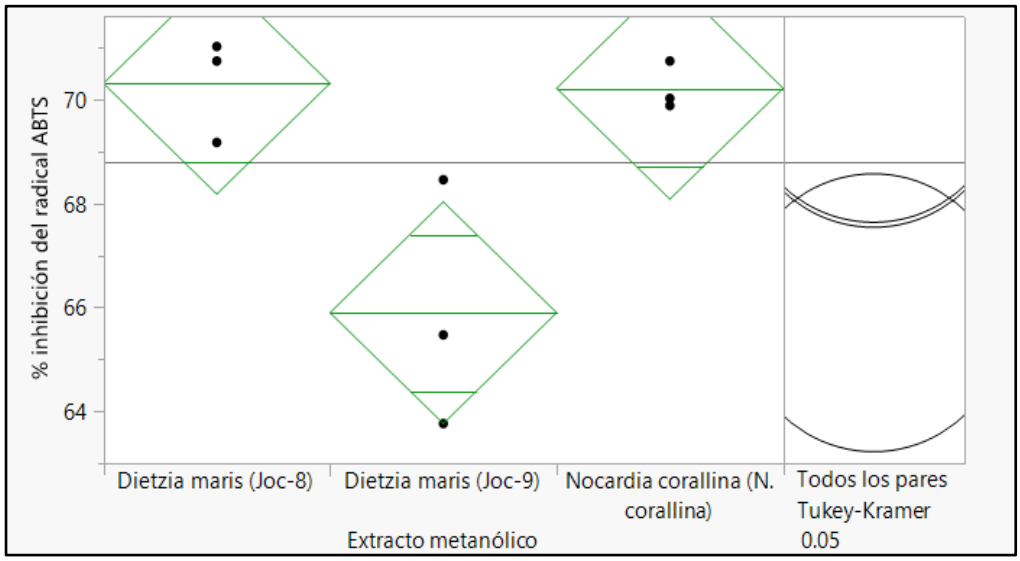
Nivel		Media
Dietzia maris (Joc-8)	A	70.330000
Nocardia corallina (N. corallina)	A	70.233333
Dietzia maris (Joc-9)	B	65.906667

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente distintos.

Informe de las diferencias ordenadas

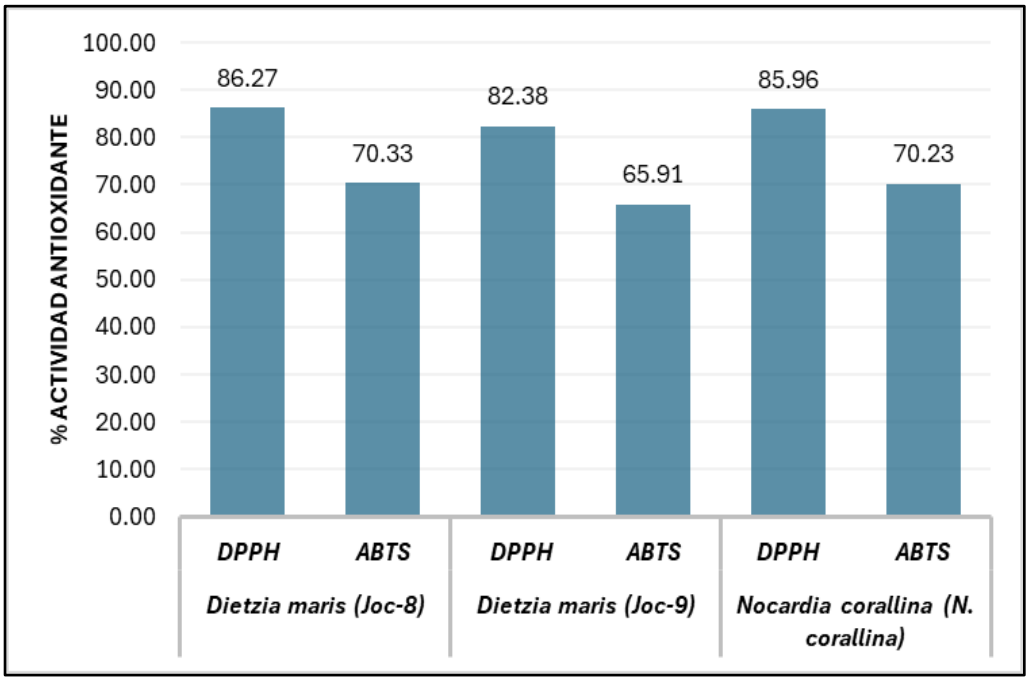
Nivel	- Nivel	Diferencia	Error estándar de la diferencia	Límite de control inferior	Límite de control superior	Valor p
Dietzia maris (Joc-8)	Dietzia maris (Joc-9)	4.423333	1.235248	0.63341	8.213258	0.0270*
Nocardia corallina (N. corallina)	Dietzia maris (Joc-9)	4.326667	1.235248	0.53674	8.116591	0.0296*
Dietzia maris (Joc-8)	Nocardia corallina (N. corallina)	0.096667	1.235248	-3.69326	3.886591	0.9966





Gráfica 19. Resultados obtenidos de análisis del extracto metanólico dependiendo de la cepa por software JMP.

En resumen, según los resultados obtenidos mediante ambos métodos, se concluye que los extractos de *Dietzia maris* (Joc-8) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) destacan por su significativa actividad antioxidante. Esta observación sugiere que el extracto metanólico es adecuado para la síntesis de *AgNPs,* confirmando los resultados obtenidos en la prueba de CCF. Además, como se muestra en la Gráfica 20, los extractos presentan una mayor actividad antioxidante según el método DPPH, lo que indica la presencia de metabolitos capaces de donar átomos de hidrógeno. Esto respalda la idea de que las condiciones extremas a las que se han adaptado las *Actinobacterias* marinas les permiten producir una gran cantidad de metabolitos con la capacidad de eliminar radicales libres en células vivas. Los metabolitos de las *Actinobacterias* facilitan la reducción de las especies reactivas de oxígeno (ROS) a través de la transferencia de electrones y la donación de hidrógeno (Kannan et. al, 2023). Durante este procedimiento, el radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) se une al hidrógeno donado por los extractos, lo que provoca un cambio de color a amarillo; este cambio permite evaluar la capacidad reductora de los extractos, indicando su potencial antioxidante. Este fenómeno fue evidenciado en las pruebas de CCF con el revelador y en la medición de la actividad antioxidante mediante el método DPPH.



Gráfica 20. Valores del % de actividad antioxidante de cada extracto metanólico por método.

8.8. Reducción del $AgNO_3$ con extractos metanólicos obtenidos de las *Actinobacterias*

De acuerdo con Pereyra en 2018 y Pallavi 2022, el proceso de reducción de la plata por *Actinobacterias* se evidencia mediante un cambio de color en la mezcla, pasando de un tono amarillo claro a matices café-rojizos. Por lo que este cambio cromático constituye una evidencia visual clara de la exitosa síntesis de *AgNPs* como se muestra en la Figura 23. No obstante, en la combinación con el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-9), se observó una tonalidad notablemente más débil en comparación con las otras dos mezclas; este hallazgo confirma las conclusiones previas sobre la baja actividad antioxidante de este extracto, lo que se traduce en una eficacia reducida para la reducción del nitrato de plata y, en consecuencia, en la síntesis de nanopartículas de plata; por lo que, esta combinación fue descartada. Sin embargo, esto contrasta con lo reportado por Venil et al en 2020, donde se logró una mayor eficacia en la reacción de reducción utilizando cantaxantina extraída de *Dietzia maris*. Este compuesto, gracias a su estructura rica en dobles enlaces conjugados, tiene la capacidad de actuar como donador de electrones, lo que le permite reducir eficazmente el nitrato de plata

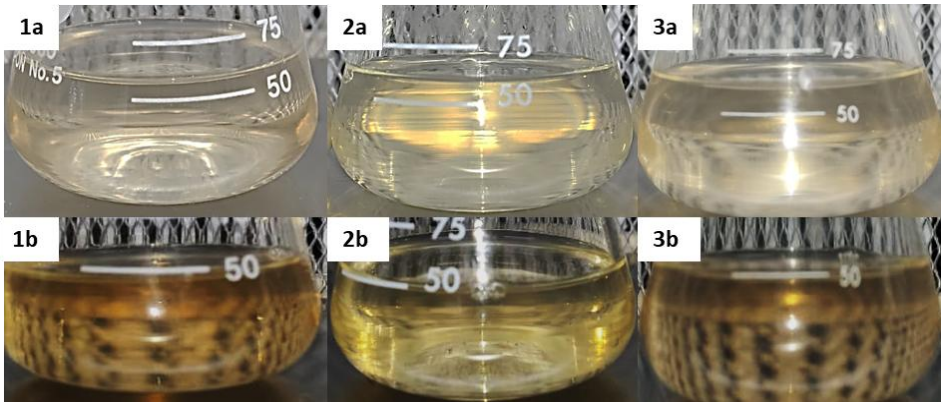
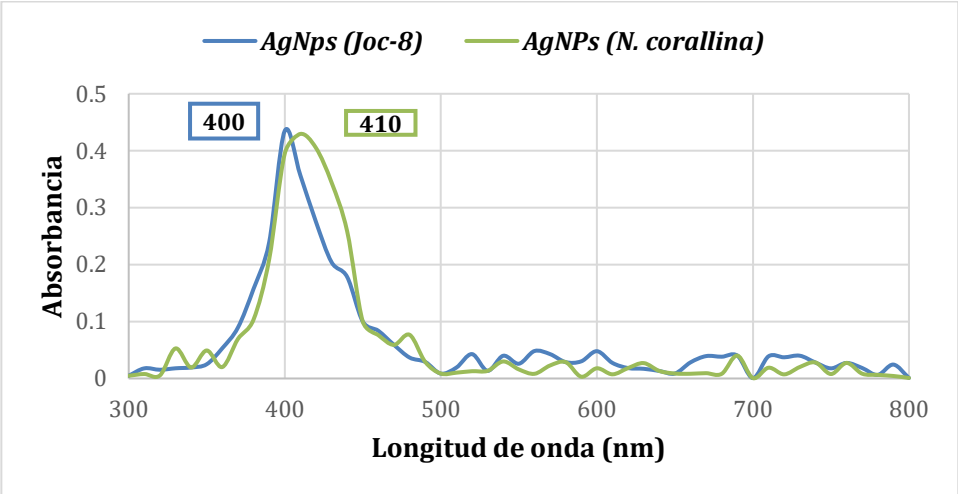


Figura 23. Reacción de reducción del nitrato de plata con extracto metanólico de *Dietzia maris* Joc-8 (1a) antes de la reacción, (1b) después de la reacción; Joc-9 *Dietzia maris* (2a) antes de la reacción, (2b) después de la rección; NC *Nocardia corallina* (3a) antes de la reacción, (3b) después de la reacción.

8.9. Caracterización de las nanopartículas de plata

8.9.1. Espectrofotometría Ultravioleta-Visible

Los resultados, tanto en la tabla 53 en el apartado de anexos como en la gráfica 21 revelan que la longitud máxima de absorción de las muestras de cada extracto se sitúa en 400 y 410 nm, lo cual según De la Llana (2018), indican la presencia de *NPsm* con un diámetro aproximado de 10 a 40 nm respectivamente. Es relevante destacar que el valor de 410 nm indica la presencia del plasmón superficial de la plata metálica (Pallavi, 2022), lo cual confirma que las *NPsm* son de plata. Además, cabe señalar que las mediciones se realizaron por sextuplicado, y la consistencia en los valores obtenidos demuestra tanto la repetibilidad como la reproducibilidad de los resultados.



Gráfica 21. Valores de absorbancia de las *AgNPs* obtenidas con cada extracto metanólico *Dietzia maris* (Joc-8) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) en intervalo de 300 a 800 nm en mediante Uv-Vis.

8.9.2. Análisis por microscopía electrónica de transmisión

El análisis por TEM reveló que la mayoría de las partículas presentaban una morfología predominantemente esférica, con diámetros inferiores a 100 nm, además de observarse sus correspondientes aglomerados. Según la micrografía de campo claro de las *AgNPs* (Joc-8) (ver Figura 24), se observaron nanopartículas con una morfología relativamente uniforme, con diámetros que oscilan entre 15 y 25 nm, y un tamaño promedio de 17 nm; este valor es similar al reportado por Ahmed et. al en 2020. Este resultado confirma la exitosa síntesis de las nanopartículas.

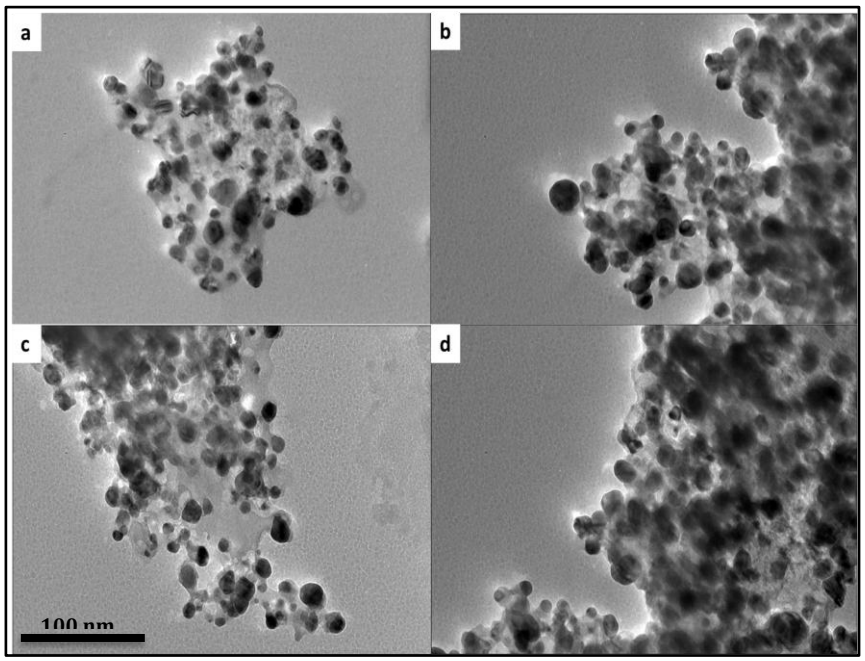


Figura 24. Nanopartículas de plata obtenidas con el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) con una morfología homogénea predominantemente esférica, visualizadas por TEM campo claro.

En cuanto a las *AgNPs* (*N. corallina*) mostraron una morfología mayormente homogénea, según se observa en la micrografía obtenida (Figura 26). Sin embargo, también se detectaron defectos conocidos como maclas (Mendoza Ramírez, et al, 2020), en forma de "flor" (ver Figura 26b) los cuales son formadas por el desplazamiento de átomos de sus posiciones de equilibrio formando planos de simetría en el cristal como se muestra en la Figura 25; por lo tanto, demuestra que es una nanopartícula con espesor no uniforme (Imperfecciones Cristalinas, 2020). Además, sin dejar de mencionar que también se visualizan estructuras poliédricas con un diámetro variable principalmente entre 13 y 20 nm, con un tamaño promedio de 15 nm, lo que permite concluir que la síntesis fue exitosa; este valor es similar al reportado por Ahmed et. al en 2020, quienes obtuvieron *AgNPs* mediante síntesis verde utilizando *Streptomyces laurentii*. Estos resultados confirman que se pueden obtener nanopartículas de tamaño

similar en diferentes especies de *Actinobacterias*.

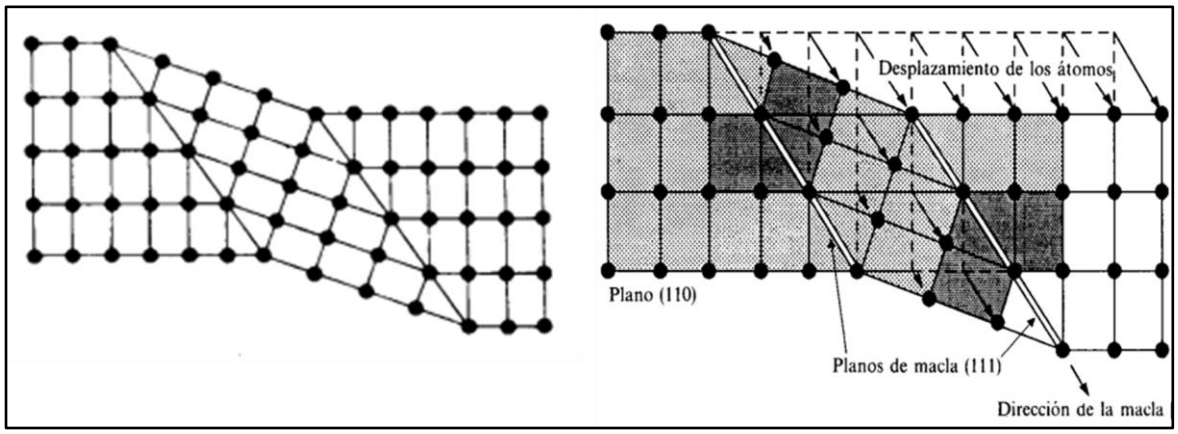


Figura 26. Imperfección superficial cristalino Macla

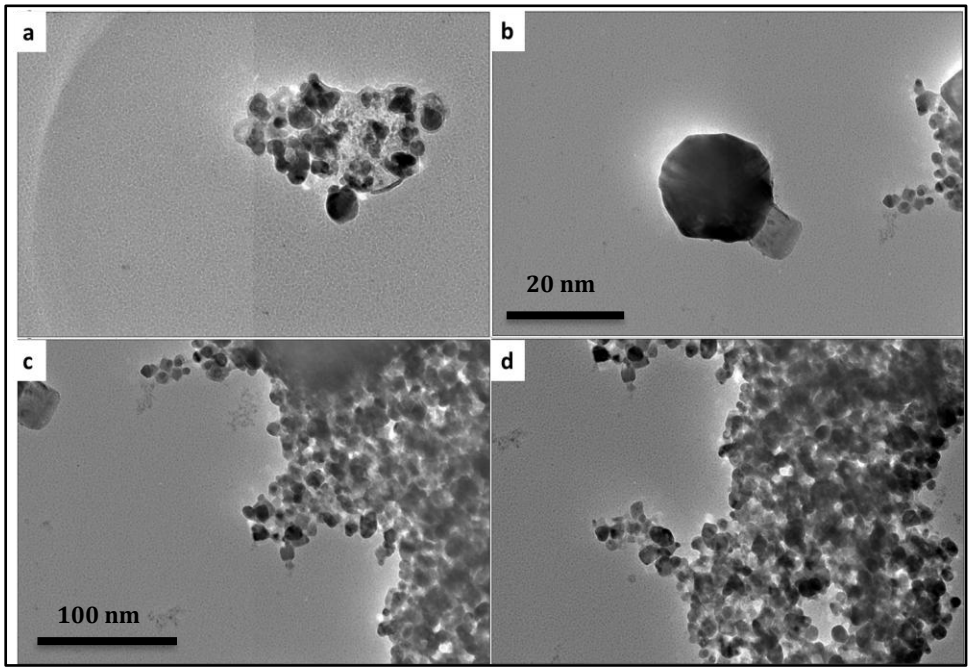


Figura 25. Nanopartículas de plata obtenidas con el extracto metanólico de *Nocardia corallina* (*N. corallina*) con una morfología homogénea predominantemente esférica, visualizadas por TEM campo claro. En cuanto a la figura (b) se muestran defectos superficiales llamadas maclas.

8.9.2.1. Difracción de electrones

La difracción de electrones es una técnica poderosa para estudiar las propiedades de la superficie de un sólido a nivel atómico y molecular. Esta técnica se basa en el principio de que los electrones, al incidir sobre un material, pueden experimentar un fenómeno similar a la difracción de la luz. En la Figura 27 se muestra el patrón de difracción de electrones, indicando la formación de nanopartículas poliédricas. Además, se comprobó la presencia de nanopartículas con planos cristalinos de índices de Miller (020), (200), (220) cuyos anillos de difracción se pueden indexar con base en la estructura FCC de la plata (Hernández, 2013; Torres, 2020).

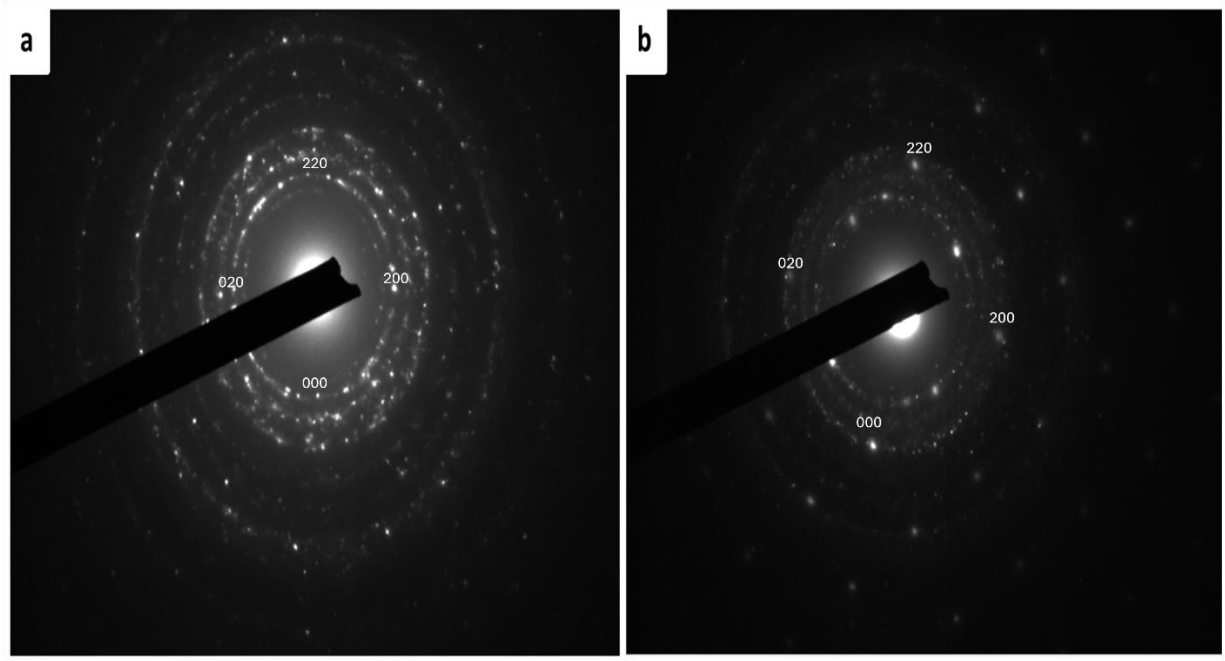


Figura 27. Patrones de difracción de electrones representativas de las nanopartículas obtenidas con el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) (25a) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) (25b).

En el patrón de difracción de las *AgNPs* (Joc-8) (Figura 26a), se observa que los cristales no son continuos o iguales por lo tanto el patrón de difracción muestra anillos discontinuos lo que confirma lo anterior mencionado de tener estructuras poliédricas. En contraste, para las *AgNPs* (*N. corallina*) (Figura 26b), el patrón de difracción se asemeja a una sola "familia" de puntos, lo que sugiere la posibilidad de obtener difracción de un monocristal o en otras palabras de una sola estructura. Estos dos patrones confirman que las nanopartículas obtenidas presentan una naturaleza poliédrica (Torres, 2020).

8.9.3. Análisis por espectroscopia de infrarrojo (IR) con detección de reflexión total atenuada (ATR)

En cuanto a los resultados obtenidos de las *AgNPs* (Joc-8) (Figura 28b) y *AgNPs* (*N. corallina*) (Figura 28c), se identificaron varias bandas características: 3240 cm^{-1} correspondiente al estiramiento O-H de compuestos fenólicos y alcoholes; igualmente una señal de estiramiento en 2921 cm^{-1} correspondiente a enlace química C-H con hibridación Sp^2 y CH_3 de las cadenas carbonadas y grupos alifáticos; por otro lado en 1587 cm^{-1} se observa una banda característica de enlaces C=C correspondientes a grupos aromáticos y/o alquenos (Venil, et al, 2020; Bustos, 2023). La aparición de una banda intensa en 1580 cm^{-1} corresponde al estiramiento del C=O; y 723 cm^{-1}

correspondiente a los grupos -OH; además también se observa la aparición de las bandas espectrales a 670 cm^{-1} correspondiente a los grupos -CH (Zea, et al, 2019). Estas señales podrían ser atribuibles a compuestos reductores que probablemente se originan a partir de los restos de los extractos, así como también del medio en el que estaban suspendidas las nanopartículas, y es posible que se hayan incrustado en ellas (Pallavi et al 2021). Sin embargo, principalmente, se destaca la banda característica de la plata, la cual, según Zea Álvarez y Talavera Núñez (2019), se evidencia en un valor cercano o igual a 1357 cm^{-1}, tanto en el control (nitrato de plata, ver Figura 28a) como en las *AgNPs* de ambos extractos (*Dietzia maris* (Joc-8) ver Figura 28b y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) ver Figura 28c). Por lo tanto, se puede concluir que las *AgNPs* son efectivamente nanopartículas de plata (Zea, et al, 2019).

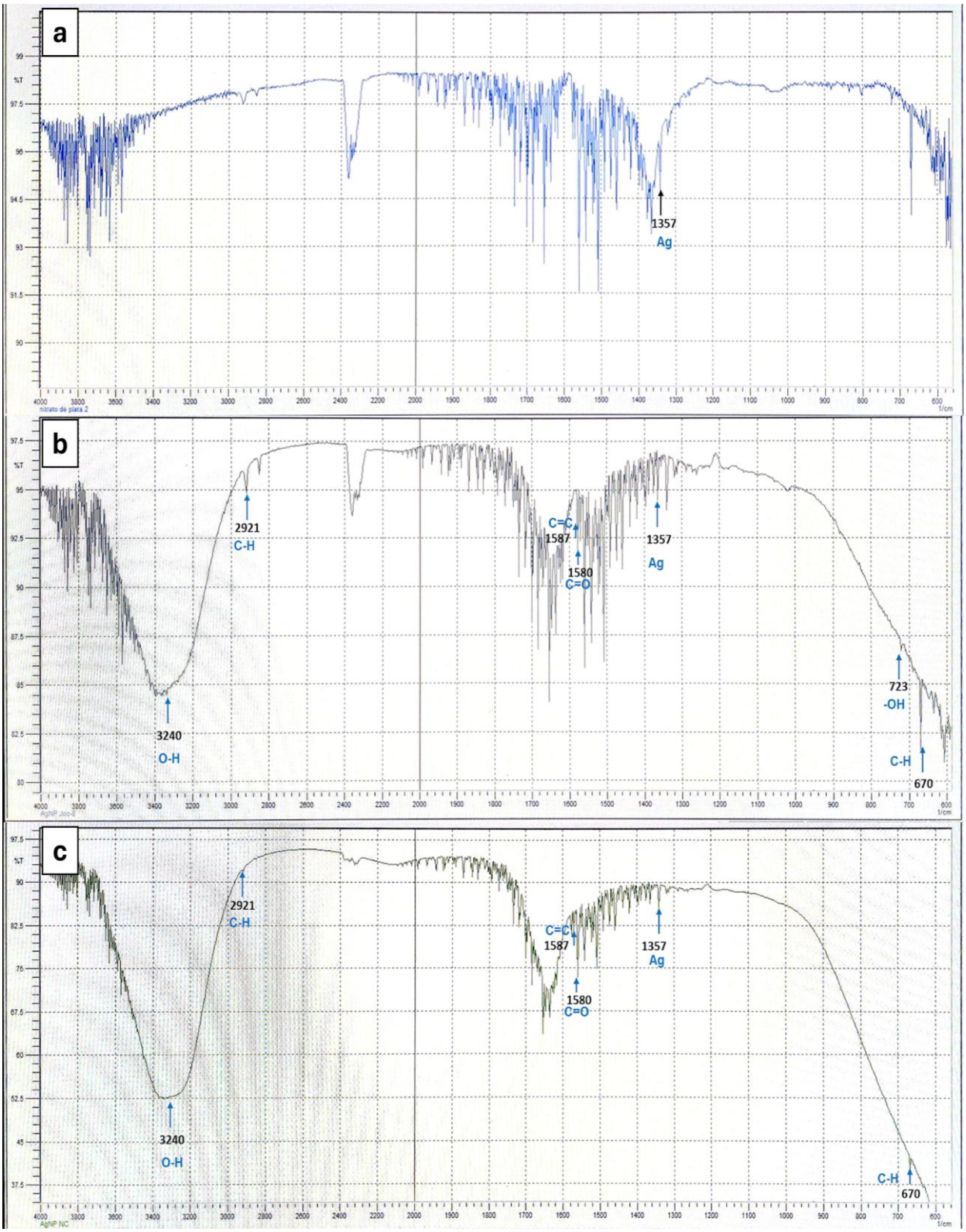


Figura 28. Espectro obtenido mediante IR-ATR del control nitrato de plata (a), las *AgNPs* obtenidas mediante el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) (b) y las *AgNPs* obtenidas mediante el extracto metanólico de *Nocardia corallina* (*N. corallina*) (c).

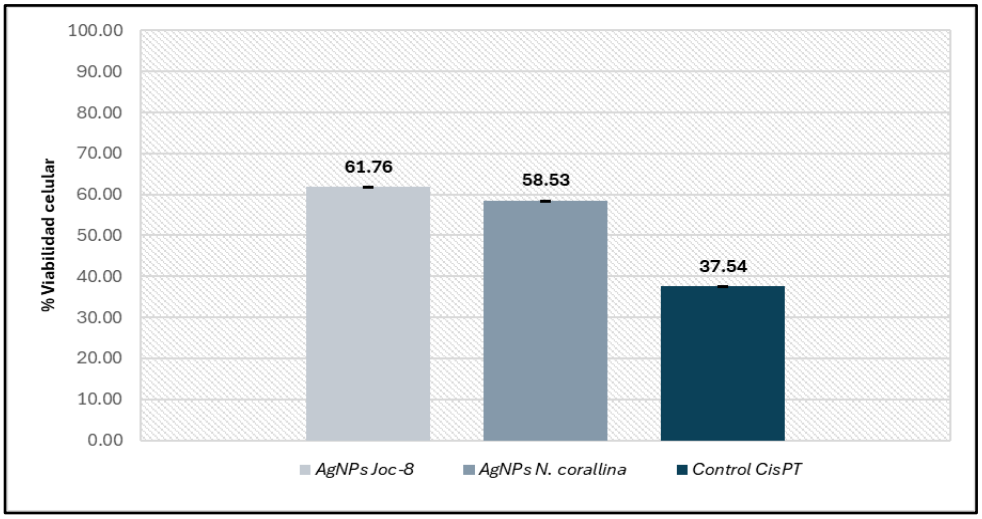
8.10. Ensayo de actividad anticancerígena en células HeLa

Como se muestra en la Tabla 34 y la Gráfica 22, este último alcanzó un valor de muerte celular del 62.46%; por lo que este dato se corrobora con un valor de viabilidad celular del 37.54 ±0.006%, reafirmando así su eficacia. Además, en relación con las *AgNPs* (Joc-8) y *AgNps* (*N. corallina*), se observó una disminución de la viabilidad celular a valores de 61.76 ±0.007% y 58.53 ±0.007%, respectivamente. Estos resultados sugieren que poseen una capacidad significativa para inducir la muerte celular del 38.24% y 41.47%, lo que evidencia su potencial actividad antineoplásica o anticancerígena. No obstante, este valor es inferior al del control con cisplatino, lo que sugiere una actividad citotóxica menor en comparación con el control positivo.

Sin embargo, los datos de viabilidad de las *AgNPs* obtenidas en este ensayo son superiores en comparación con los reportados en el estudio de Torres en 2017, donde se logró una viabilidad del 69%, lo que implica una muerte celular del 31% en la línea celular de cáncer de cérvix SiHa, la cual es similar a la obtenida en la presente investigación. Esto infiere que puede que no sean muy efectivas en cáncer cervicouterino, sería importante continuar la investigación de estas *AgNPs* en otras líneas de cáncer.

Tabla 34. Resultados de viabilidad celular de las células HeLa mediante ensayo con MTT.

Tratamiento	% Viabilidad celular	Desviación estándar	% Muerte celular
***AgNPs* Joc-8**	61.76	0.007	38.24
***AgNPs* NC**	58.53	0.007	41.47
Control CisPt	37.54	0.006	62.46



Gráfica 22. Ensayo de viabilidad en células HeLa.

En cuanto al análisis estadístico mostró que hay una diferencia estadísticamente significativa entre los tres grupos debido a que el valor de p obtenido es de < 0.0001 (Tabla 35), siendo inferior a 0.05. Ahora bien, al comparar las *AgNPs* (Joc-8) y *AgNPs* (*N. corallina*) contra el control positivo que es el CisPt, mediante la prueba de Dunnett (Tabla 36) se confirmó que el CisPt ejerce una actividad antineoplásica mayor que las nanopartículas de plata como se muestra en la gráfica 23.

Tabla 35. Resultados obtenidos de análisis de varianza ANOVA de un solo factor mediante software JMP.

ANOVA de un factor

Resumen del ajuste

R cuadrado	0.937191
R cuadrado ajustado	0.928817
Raíz del error cuadrático medio	3.04617
Media de respuesta	52.61111
Observaciones (o suma de pesos)	18

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Cepa	2	2076.8685	1038.43	111.9105	<.0001*
Error	15	139.1872	9.28		
C. Total	17	2216.0558			

Medias para ANOVA de un factor

Nivel	Número	Media	Error estándar	Extremo inferior del IC al 95%	Extremo superior del IC al 95%
AgNPs Joc-8	6	61.7633	1.2436	59.113	64.414
AgNPs N. corallina	6	58.5350	1.2436	55.884	61.186
Control CisPT	6	37.5350	1.2436	34.884	40.186

El error estándar utiliza una estimación combinada de la varianza del error

Tabla 36. Resultados obtenidos de análisis de comparación de medias por software JMP.

Comparaciones de medias

Comparaciones con control mediante el método de Dunnett

Grupo control = Control CisPT

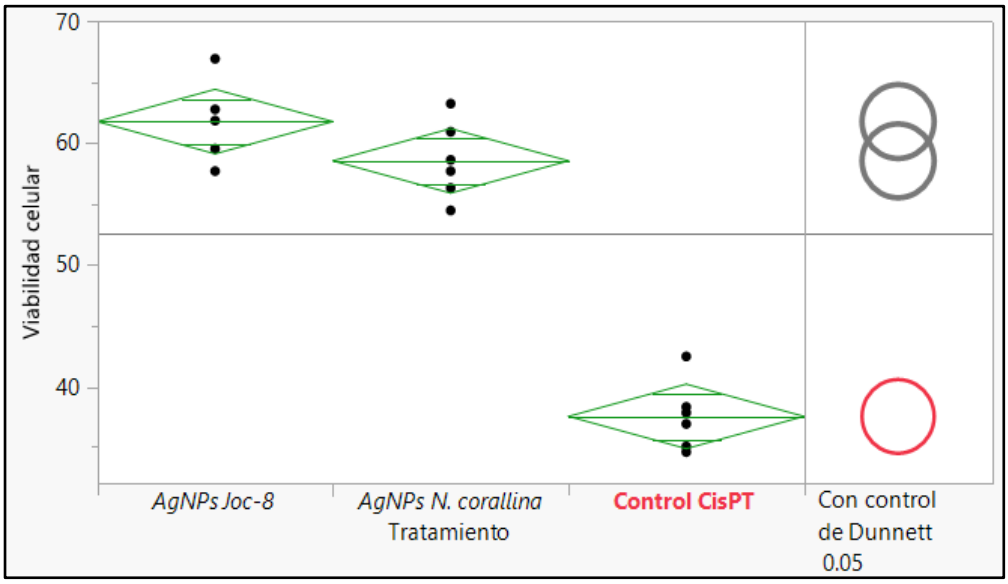
Cuantil de confianza

|d|	Alpha
2.43919	0.05

Matriz de umbral LSD

Nivel	Abs (Dif) - LSD	Valor p
AgNPs Joc-8	19.94	<.0001*
AgNPs N. corallina	16.71	<.0001*
Control CisPT	-4.29	1.0000

Los valores positivos muestran pares de medias que son significativamente distintas.



Gráfica 23. Resultados obtenidos de análisis de viabilidad celular dependiendo del tratamiento por software JMP.

9. Conclusiones

- Los análisis moleculares han permitido identificar las cepas bacterianas estudiadas, revelando su pertenencia a la clase Actinobacteria. Además, este trabajo no solo ha confirmado la identidad de estas bacterias, sino que también ha resaltado la estrecha relación entre diferentes géneros bacterianos, basada en estudios genéticos.
- Se obtuvieron los metabolitos secundarios extraídos de las cepas de *Actinobacterias* marinas en donde los análisis comparativos mostraron que la extracción directa con metanol se obtienen una mayor cantidad y diversidad de compuestos con actividad antioxidante.
- Los compuestos presentes en los extractos metanólicos de *Dietzia maris* (Joc-8) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) mostraron una alta actividad antioxidante, según los datos recopilados en el método DPPH. Por lo tanto, estos experimentos demostraron que estos extractos son adecuados para la síntesis de *AgNPs*.
- Por el método ABTS promete tener una mayor actividad antioxidante que bacterias del género Streptomyces
- La evaluación de los extractos de las *Actinobacterias* mediante tamizaje metabólico permitió identificar compuestos de interés, tales como taninos, flavonoides, saponinas, carbohidratos, glúcidos, cumarinas, alcaloides, proteínas, antraquinonas y compuestos fenólicos. Los cuales poseen una notable actividad antioxidante, destacando el potencial de estos extractos como fuentes de antioxidantes naturales.
- La cuantificación de los metabolitos reveló que el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-8) y *Nocardia corallina* (*N. corallina*) constituye una valiosa fuente de metabolitos secundarios con actividad antioxidante, lo que los hace adecuados para la síntesis de *AgNPs*.
- Las *AgNPs* fueron sintetizadas con éxito, sin embargo, el extracto metanólico de *Dietzia maris* (Joc-9) mostró una deficiencia en la síntesis confirmando su baja actividad antioxidante.
- Las *AgNPs* fueron caracterizadas utilizando técnicas espectroscópicas y microscópicas, confirmando la presencia de nanopartículas metálicas poliédricas de plata con un diámetro aproximado de 10 a 40 nm.
- Los resultados obtenidos sugieren que las *AgNPs* poseen una capacidad para inducir la muerte celular; estos hallazgos respaldan su potencial actividad antineoplásica o anticancerígena reportada en la literatura. Aunque el CisPt mostró una mayor actividad en comparación con las *AgNPs,* dichas

nanopartículas podrían ser una alternativa prometedora en el tratamiento del cáncer cervicouterino, con una actividad citotóxica moderada. Sin embargo, es necesario realizar más investigaciones para lograr un mayor control sobre sus características.

10. Prospectivas

- Se recomienda ampliar la investigación a otras líneas celulares de cáncer para evaluar la eficacia y especificidad de las *AgNPs* y esto permitirá determinar si el efecto citotóxico observado es generalizable a otros tipos de cáncer.
- Expandir la investigación sobre cepas multirresistentes para evaluar la actividad antibacteriana de las AgNPs y compararlas con antibióticos de referencia.
- Se recomienda continuar con los estudios de toxicidad de las *AgNPs.*
- Optimizar el proceso de síntesis de las *AgNPs* para mejorar su estabilidad, tamaño y distribución uniforme. Esto podría incluir la modificación de las condiciones de reacción.
- Se recomienda realizar estudios metabolómicos para investigar las diferencias en actividad antioxidante de las dos cepas de *Dietzia maris* que fueron analizadas en esta investigación.
- Fomentar la colaboración entre investigadores en biología, química, medicina y nanotecnología para abordar los desafíos multidisciplinarios en el desarrollo y aplicación de estas nanopartículas.

11. Referencias

¿Qué es el cáncer de cuello uterino? (22 de septiembre de 2023). Instituto Nacional del cáncer. https://www.cancer.gov/espanol/tipos/cuello-uterino

¿Qué es el cáncer? (05 de mayo de 2021). Instituto Nacional Del Cáncer. https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es

Abril-Ibarra, Z. (2022). Antioxidantes producidos por microorganismos acuáticos y terrestres con uso potencial en cosméticos. *Revista de Actualidades Biológicas*, 44 (116), 1-19. https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v44n116a02

Ahmed, M., Amr, F., Gniewko, N. & Colaboradores. (2020). Endophytic *Streptomyces laurentii* Mediated Green Synthesis of Ag-NPs with Antibacterial and Anticancer Properties for Developing Functional Textile Fabric Properties. *Antibiotics review.* 9, 641. https://doi.org/10.3390/antibiotics9100641

Ávila Núñez, R., Rivas Pérez, B., Hernandez Montzezak, R., & Chrinos, M. (2012). *Azúcares totales, reductores y no reductores en Agave Cocul Trelease. Universidad del Zulia, 12,* (2). 129-135. https://www.redalyc.org/pdf/904/90424216002.pdf

Barka, E.A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., & Colaboradores. (2015). Taxonomía, fisiología y productos naturales de Actinobacteria*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 80,* (1), 1–43. https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15

Bautista Moncada, G. (2019). *Aplicaciones biomédicas de nanopartículas con estructura core-shell*. [Tesis Licenciatura, Universidad de Sevilla]. Depósito de Investigación Universidad de Sevilla.https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/91948/bautista%20moncada%2c%20gema.pdf?sequence=1&isallowed=y

Beato Sánchez, Y. (2021). Empleo de nanopartículas en el tratamiento del cáncer. [Tesis de Licenciatura. Universidad de Sevilla]. Depósito de Investigación Universidad de Sevilla. https://idus.us.es/handle/11441/132519?show=full

Betancur C., B., Jimenez G., D. M., & Linares, B. G. (2012). Potencial zeta (ζ) como criterio de optimización de dosificación de coagulante en planta de tratamiento de agua potable. *Revista Dyna*, *175*, 166-172.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0012-73532012000500020

Biju, J., Sulaiman, C., Satheesh, G., & Reddy, V. (2014). Spectrophotmetric estimation of total alkaloid in selected justicia species. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6,* (5). 647-648. https://www.researchgate.net/publication/263204473_Spectrophotometric_estimation_of_total_alkaloids_in_selected_justicia_species

Bouzid, H., Filho, C., Marques, J., Valente, A. & Colaboradores. (2020). New aprovach on the amino acid lysine quantification by UV-Visible spectrophotometry. *Revista de Chimie, 71,* (8). 159-175. https://doi.org/10.37358/RC.20.8.8290

Bustos Zambrano, L. (2023). *Síntesis verde de nanopartículas de plata a partir de un extracto vegetal de Brunfelsia grandiflora y evaluación de su actividad antiinflamatoria in-vitro*. [Tesis Licenciatura. Universidad del Bosque]. Repositorio Universidad del Bosque. https://repositorio.unbosque.edu.co/server/api/core/bitstreams/3e5c044e-4157-4ab7-adb7-3e25a0d82e6c/content

Cabrera Segura, D. (2017) *Identificación de genes policétido sintasas en Actinobacterias aisladas en la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán*. [Tesis Maestría. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. Repositorio institucional BUAP. https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/36/036417T.pdf?sequence=1

Cáncer cervicouterino. (17 de noviembre de 2023). Organización Mundial de la Salud. https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cervical-cancer#:~:text=El%20c%C3%A1ncer%20de%20cuello%20uterino,342%20000%20muertes%20en%202020

Cáncer cervicouterino. (2023). Organización Panamericana de la Salud. https://www.paho.org/es/temas/cancer-cervicouterino

Cardoso, P. (2016). Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Revista Hospital de Niños*. 58(260), 19-28. http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2016/04/260-Nanoparti%CC%81culas-de-plata.pdf

Chang, C., Lin, S., & Lai, G. (2011). Phytochemical characteristic, free radical scavengig activities and neuroprotection of five mecicinal plant extracts. *National Library of Medicine.* https://doi.org/10.1155/2012/984295

Coutiño, E. M. R., Ávila Lagunes, L., & Arroyo Helguera, O. (2017). Las nanopartículas de plata: mecanismos de entrada, toxicidad y estrés oxidativo. *Revista de Educación Bioquímica*, *36*(2), 39-54. https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2017/reb172b.pdf

Cuervo Salcedo, D., Vanegas Campos, J. (2017). *Diseño de un producto antibacterial para superficies procedente de extractos vegetales de drimys granadensis l.f a nivel laboratorio*. [Tesis de Grado. Fundación Universidad de América]. Repositorio Universidad de América. https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/6560/1/6112767-2017-2-IQ.pdf

Cuesta Amat, G. (2004). Detección y caracterización por métodos fenotípicos y moleculares de mycolata formadores de espumas en estaciones depuradoras de aguas residuales domésticas con sistemas de fangos activos. [Tesis Doctoral, Universitat Politécnica de Valencia]. Repositorio Institucional de la Universitat Politécnica de Valencia. https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/2665

De Arruda Lima, S.M., Silvino Pereira, P., Miranda da Silva, B.I., Ribeiro, N.E. & Colaboradores. (2021). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of secondary metabolites from Streptomyces sp. isolated of the Amazon - Brazil region. *Research, Society and Development, 10* (10). http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18974

De la llana Barón, P. (2018*). Caracterización de nanopartículas de plata en muestras medioambientales por cromatografía hidrodinámica*. [Tesis de Grado. Universidad Zaragoza]. Repositorio de la Universidad Zaragoza. https://zaguan.unizar.es/record/76524/files/TAZ-TFG-2018-3765.pdf?version=1#:~:text=1.2%20Caracterizaci%C3%B3n%20de%20AgNPs%20empleando,la%20presencia%20de%20nanopart%C3%ADculas%20met%C3%A1licas

De Lima Procópio, R.E., Reis da Silva, I., Kassawara Martins, M., & Colaboradores. (2012). Antibióticos producidos por Streptomyces. *Revista Brasileña de Enfermedades Infecciosas, 16* (5). https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.08.014

Dirección General de Divulgación de la Ciencia, UNAM. (2 de agosto de 2019). ¿Qué son las nanopartículas? Fundación UNAM. https://www.fundacionunam.org.mx/unam-al-dia/la-unam-te-explica-que-son-las-nanoparticulas

Dona, A., Kyriakides M, Scott, F., Sherpad & Colaboradores. (2016). guide to the identification of metabolites in NMR based metabonomic/metabolomics experimentes. *Computational and Structural Biotechnology Journal, 14.* https://doi.org/10.1016/j.csbj.2016.02.005

Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E. (2008). Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carcosin acid, rosmarinic acid and sesamol. *Journal of Food Chemistry*, *110*, (1); 76-82. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.058

Escobar Falconi, V. E. (2015). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por espectroscopía infrarroja (FT-IR), UV-Vis, absorción atómica de llama (FAAS) y microscopía de barrido electrónico (SEM)*. [Tesis de Grado. Universidad Pontificia de Ecuador]. Repositorios Latinoamericanos. https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2965772

Escobar Luis F., Rojas Carlos A., Colaboradores. (2010). Evaluation of lactobacillus casei growth and production of lactic acid using as substrate the whey of bovine milk. *Revista Investigación Universitaria Quindío*, *20*, (1): 42 – 49. https://doi.org/10.33975/riuq.vol20n1.707

Espinosa Cavazos, K., & Sáenz Galindo, A. (2018). Applications of Silver Nanoparticles to Combat Breast Cancer. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*. (10);2-3. http://www.biochemtech.uadec.mx/Articulos/No.19/nanoparticulas.pdf

Espinosa Manrique, W., Garzón Salcedo, A., & Medina Vargas, A. (2016). Validación de una metodología analítica para cuantificación de polifenoles totales, en proceso de extracción asistida por microondas sobre frutos de la especie colombiana

Vaccinium meridionale. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas, 45,* (1). https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n1.58023

Esquivel-Figueredo, R. C., & Mas-Diego, S. M. (2020). Biological synthesis of silver nanoparticles: review of potential use of Trichoderma species. *Revista Cubana de Química, 33,* (2);15-30. https://www.redalyc.org/journal/4435/443568186002/html/

Fadhil, S., Reza, M., Rouhollah, G., & Reza, V. (2007). Spectrophotmetric determination of total alkaloids in peganum harmala L. using bromocresol green. *Research Journal of Phytochemistry, 1,* (2). 79-82. https://scialert.net/fulltext/?doi=rjphyto.2007.79.82

Ferreruela Vicente, R., & Llorenç Bellés, V. (s.f.). Nocardia asteroides. Servicio de Microbiología. Hospital "Lluis Alcanyis", Xátiva. (50);50-62, Obtenida en: https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/nocardia.pdf

Gharibzahedi, et. al. (2014). Characterization of bacteria of the genus *Dietzia*: an updated review. Ann Microbiol. (64); 1-11, Doi: http://dx.doi.org/10.1007/s13213-013-0603-3

Gómez Garzón, M. (2018). Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*. https://revistas.fucsalud.edu.co/index.php/repertorio/article/view/191/209

Gómez Villarraga, F. (s.f.). Nanopartículas metálicas y sus aplicaciones. https://innovacionyciencia.com/documentos/nanoparticulas_metalicas_y_sus_aplicaciones.pdf

González García, S., Bustos Martínez, J.A., (2017). *Efecto citotóxico y caracterización de nanopartículas de cobre-titania*. [Tesis Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana]. Repositorio Institucional de la UAM. https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/2296

González Pedroza, M. (2020). *Biosíntesis, caracterización y evaluación de la respuesta antiproliferativa de nanopartículas de plata, obtenidas a base de extractos de annona muricata, sobre líneas celulares de cáncer de mama*. [Tesis Doctorado. Universidad Autónoma del Estado de México]. Repositorio UAEMex.

http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/105566/TESIS%20DOCTORADO.pdf?sequence=1

González, A., Erna C. (2006). Nocardia asteroides. *Revista chilena de infectología, 23* (4);4-6, Doi: http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182006000400011

Gorrín López, Y. (2018). *Caracterización genética de actinomicetos aislados en suelos de Tenerife y evaluación de su potencial biotecnológico*. [Tesis Licenciatura. Universidad de la Laguna]. Repositorio RIULL. https://riull.ull.es/xmlui/handle/915/9644

Gutiérrez Wing, C. (2021). Las nanopartículas: pequeñas estructuras con gran potencial, ¿Por qué el interés en estos materiales? ¿Qué aplicaciones tienen? *ININ*. https://docplayer.es/14743940-Las-nanoparticulas-pequenas-estructuras-con-gran-potencial.html

Hernández Díaz, M.P. (2013). *Síntesis de nanopartículas de plata biológicamente asistida con Opuntia sp. Y su incorporación en membranas poliméricas nanofibrosas.* [Tesis Maestría. Centro de Investigación en Química Aplicada]. Repositorio Institucional de CIQA. https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/64/1/Tesis%20de%20maestria%20Marco%20Polo%20Hernadez.pdf

Hernández Quintero, J., Rosales Nolasco, A., Molina Macedo, A., & Colaboradores. (2017). Cuantificación de antiocianinas mediante espectroscopia de infrarrojo cercano y cromatografía liquida en maíces pigmentados. *Revista Sociedad Mexicana de Fitogenética, 40,* (2). 219-225. https://www.redalyc.org/pdf/610/61051413013.pdf

Herrera Robalino, D., & Hernández Cifre, J. G. (2021). Caracterización de suspensiones de nanopartículas de oro en presencia del copolímero poli (N-isopropilacrilamida)-co-poli (3-acrilamidopropil trimetilamonio): Influencia de la fuerza iónica y la temperatura. *ACI Avances En Ciencias E Ingenierías*, *13*(2), 18. https://doi.org/10.18272/aci.v13i2.2338

Hinojosa Dávalos, J., Cardona López, M., & Colaboradores. (2019). Identificación del perfil fitoquímico y efecto del estrés lumínico sobre la capacidad antioxidante del germinado de brócoli en un dispositivo germinador rotatorio tipo tambor. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, 21,* (3).

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwiK7pquy8WDAxUVl2oFHVm0DVcQFnoECAEQAQ&url=https%3A%2F%2Fbiotecnia.unison.mx%2Findex.php%2Fbiotecnia%2Farticle%2Fdownload%2F1013%2F343%2F3084&usg=AOvVaw2aHDZ51VwpCYrQULucXac0&opi=89978449

Imperfecciones cristalinas. (2020). *Sistema cristalino*. 43-62. https://www.raquelserrano.com/wp-content/files/Ciencias_t2b_imperfecciones

Kannan, K., Pitchiah, S., G.J. Jeevan, K. & Colaboradores. (2023). Antioxidant properties from novel marine actinobacteria. *Elsevier Inc.* https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95086-2.00006-0

La célula inmortal. (2016). Universidad Autónoma de Medicina de Buenos Aires. 76: 40-41. http://www.scielo.org.ar/pdf/medba/v76n1/v76n1a08.pdf

Lastra Valdez, H., Rodríguez Leyes, E., Ponce de león Rego, H., & Gonzales Sanabia, M. (2000). Método analítico para la Cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo. *Revista Cubana de Plantas Medicinales, 5,* (1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962000000100005

Linamaría Escobar, M., Rivera, A., & Aristizábal, F. (2010) Estudio comparativo de los métodos de resazurina y MTT en estudios de citotoxicidad en líneas celulares tumorales humanas. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica, 17, (1).* http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042010000100009

Llacuna, L., & Mach, N. (2012). Papel de los antioxidantes en la prevención del cáncer. Revista Española de Nutrición Humana y Dietética. 16(1), 16-24. https://doi.org/10.1016/S2173-1292(12)70067-4

López Iturbe, J., Vilchis Néstor, A., & Colaboradores. (2013). Obtención y caracterización de nanopartículas de plata soportadas en fibra de algodón. *Revista Superficies y Vacío, 23, (3),* 5-8. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-35212013000300001

Maldonado Cubas, J., Casañas Pimentel, R. & Colaboradores. (2017). La espectroscopia UV-Vis en la evaluación de la viabilidad de células de cáncer de

mama. *Instituto Politécnico Nacional*. (1); 5-7. https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6556408.pdf

Martínez Parrilla, A. (2013). Combaten cáncer de mama con nanopartículas de plata. Coordinación General de Comunicación Social de la Universidad de Guadalajara. https://www.udg.mx/es/noticias/combaten-cancer-mama-nanoparticulas-plata

Masters R., J. (2002). HeLa cells 50 years on: the good, the bad and the ugly. *Nature Reviews Cancer*. 2(4):315-319. https://doi.org/10.1038/nrc775

Medrano Guzmán. (15 de agosto de 2022). Epidemiología del cáncer cervicouterino. Instituto Mexicano del Seguro Social. https://www.gob.mx/imss/articulos/epidemiologia-del-cancer-cervicouterino?idiom=es

Mendoza Ramírez, M., Avalos Borja, M. (2020). Nanostructures and their characterization by transmission electron microscopy; science and art. *Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica*, 13, (25), 61-78. http://dx.doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2020.25.69630

Mohanraj, V. & Chen, Y. (2006). Nanoparticles. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 5(1), 561-573. https://doi.org/10.4314/tjpr.v5i1.14634

Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. Anales de Química de la RSEQ, 105 (1), 33-41. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2931286

Morales, J., Morán, J., Quintana, M., & Estrada, W. (2009). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta sol-gel a partir de nitrato de plata. Revista de la Sociedad Química de Perú. 75 (2). http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2009000200004

Nayive Pino, Rommel Álvarez. (2017) Determination of secondary metabolites by thin layer cromatrography on species with ethnomedicinal use as a pedagogical strategy in the classroom. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas, 29,* 30-37. https://revistaaccb.org/r/index.php/accb/article/view/138/133

Orantes Morales, E. (2008). *Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca Quararibea yunckeri Standley Subsp. izabalensis W.S. Alverson ex Véliz (Bombacaceae)*. [Tesis Grado. Universidad de San Carlos de Guatemala]. Biblioteca Central USAC. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2698.pdf

Ortega Cabello, L. (2016). *Identificación y caracterización de los pigmentos carotenoides obtenidos de actinobacterias marinas productoras de ácidos micólicos*. Universidad Autónoma Metropolitana. (1);3.

Ortega Cabello, L., Pérez Méndez, H. I., Manjarrez Alvarez, N., & Colaboradores. (2016). Comparación de la actividad antioxidante de carotenoides en extractos crudos y pre-purificados de actinobacterias marinas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 47* (2). https://www.redalyc.org/pdf/579/57956610007.pdf

Pallavi Sathyanarayana, S., M. P., Bhat & S. Nayaka (2022). Amycolatopsis sp. strain MN235945 Mediated Biosynthesis of Silver Nanoparticles: Characterization, Antimicrobial and Anticancer Activity against HeLa and MCF-7 Cell Lines. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 84(5), 1178-1188. https://www.ijpsonline.com/articles/emamycolatopsisem-sp-strain-mn235945-mediated-biosynthesis-of-silver-nanoparticles-characterization-antimicrobial-and-anticancer-a-4734.html

Pallavi Sathyanarayana, S., Hassan Ahmed, R.B., Asmatanzeem B. & Colaboradores. (2021). Green synthesis of Silver nanoparticles using *Streptomyces hirsutus* strain SNPGA-8 and their characterization, antimicrobial activity, and anticancer activity against human lung carcinoma cell line A549. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 29 (2022), 228–238. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.084

Palomino Fernández, L. Y. (2023). *Evaluación de los métodos de caracterización por Dispersión Dinámica de Luz, Potencial Zeta y Microscopía Electrónica de Barrido de las nanopartículas de ZnO, TiO2 y SiO2*. [Tesis de Grado. Universidad Nacional del Centro del Perú]. Repositorio UNCP. https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/9952/T010_72084974_T%20-%20T010_75712596_T.pdf?sequence=4

Pereyra, J., Paterlini, P., Noblega, L. & Colaboradores. (2018). Biosíntesis y caracterización de nanopartículas de plata por actinobacterias metalo-resistentes.

Revista de Ciencia, Tecnología e Innovación. https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/13135/17-cienciatecnologia-e-innovacion-pereyra-julian-unt.pdf

Potencial zeta. (s.f.). Malvern Panalytical a spectris company. https://www.malvernpanalytical.com/es/products/measurement-type/zeta-potential#:~:text=El%20potencial%20zeta%20(o%20potencial,estabilidad%20de%20los%20sistemas%20dispersos.

Quimioterapia para cáncer de cuello uterino. (2023). American Cancer Society. https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-cuello-uterino/tratamiento/quimioterapia.html

Quizhpe Vélez, B., & Quizhpi Uchuari, D.A. (2022). *Análisis de la transformación de datos espectrales obtenidos por espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier para la cuantificación de azúcares*. [Tesis de Grado. Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca]. Repositorio UPS. https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/22652/4/UPS-CT009802.pdf

Rank Miranda, R. (2022). Exploring silver nanoparticles for cancer therapy and diagnosis. *Journal Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010,* (3). https://www2.ifsc.usp.br/portal-ifsc/wp-content/uploads/2021/12/NANOPARTICULAS-DE-PRATA.pdf

Salamah, N., & Ningsih, D. (2017). Total, alkaloid content in varius fractions of Tabernaemonata sphaerocarpa. *Materials Science and Engineering, 259.* https://doi.org/10.1088/1757-899X/259/1/012017

Salazar Quiroz, P. N. (2019). Validación de la técnica de DPPH-CLAR como método para la actividad antioxidante de metabolitos secundarios hidrofílicos extraídos de actinobacterias. [Tesis Licenciatura, Universidad Autónoma Metropolitana]. Repositorio UAM Xochimilco. https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/bitstream/123456789/26065/1/cbs1972724.pdf

Sánchez Mejias, Y., Cabrera Cruz, N., Toledo Fernández, A. & Duany Machado, O. J. (2009). Nanotechnology and its possibilities of application in the scientific-technological field. *Revista Cubana de Salud Pública*, 35, (3), 1-8. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=21418847006

Sánchez Moreno, M. (2017). Nanopartículas de plata: preparación, caracterización y propiedades con aplicación en inocuidad de los alimentos. *Módulo de química inorgánica e ingeniería química*. http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-ciencias-cytq-msanchez/sanchez_moreno_minerva_tfm.pdf

Santos Espinoza, A., & Gutiérrez Miceli, F. (2020). El papel de los compuestos polifenólicos en la síntesis verde de nanopartículas metálicas. *Revista del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, 24,* (2); 47-50. https://smbb.mx/wp-content/uploads/2020/08/7-Santos-Espinoza-et-al-2020.pdf

Serrano, J. A. & Sandoval y Trujillo, H. A. (2005). Identificación y diagnóstico de Actinomicetales patógenos. *Publicaciones del Vicerrectorado Académico Colección Ciencias de la Salud. (1);*1. http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/32979/libro_completo.pdf;jsessionid=E5A19A9E1C4A46DC5CFA13D6EA3E0FF8?sequence=2

Shanmugasundaram, T., Radhakrishnan, M., Gopikrishnan, & Colaboradores. (2017). Biocompatible silver, gold, and silver/gold alloy nanoparticles for enhanced cancer therapy: in vitro and in vivo perspectives. *Royal Society of Chemistry*. (9), 16773-16790. https://doi.org/10.1039/c7nr04979j

Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (1971). Análisis Instrumental. Madrid. (5); 25-32.

Smolinksa, A., Blanchet, L., Buydens, L., & Wijmenga, S. (2012). NMR and pattern recognition methods in metabolomics: fromdata acquisition to biomarker discovery a revierw. *Analytica Chimica Acta, 750,* (31). 82-97. https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.049

Takoukam Toukam, S., Ngakou, A., Mansour, S.R,. (2019). Pharmaceutically active secondary metabolites of newly isolated actinobacteria from two Cameroonian soils. *Catrina review. 18* (1). 177-187. https://cat.journals.ekb.eg/article_27395_6fefa4b8d39536c2424f8b733be12b2c.pdf

Torné Bladé, A., Gaba, I., Sánchez, M., & Rovirosa, A. (2020). ¿Qué es el cáncer de cuello de útero?. Portal clínico; Universidad de Barcelona.

https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/cancer-de-cuello-de-utero

Torres Gómez, N., Ávila Avilés, R, & colaboradores. (2020). Biosynthesis and characterization of nanostructures by electron microscopy. *Tecnológico Nacional de México*. http://dx.doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2020.25.69637

Torres Martínez Y. (2017). *Evaluación de la actividad anticancerígena de nanopartículas de plata: efecto del estabilizante y aporte al mecanismo de acción*. [Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma de Nuevo León]. Repositorio UANL. http://eprints.uanl.mx/14445/1/1080252178.pdf

Torres-Beltrán, M., Cardoso-Martínez, F., Millán-Aguiñaga, N., Becerril-Espinosa, A., & Soria-Mercado, I. (2012). Evaluación del Golfo de California como fuente potencial de actinobacterias marinas bioactivas. Ciencias Marinas, 38 (4), 609–624. https://doi.org/10.7773/cm.v38i4.2131

Tortora G, Funke B, Case C. (2007). Crecimiento microbiano. Introducción a la Microbiología. (9ª Edición)159-164. Buenos Aires.

Trastoy, R., Manso, T. & Colaboradores. (2017). Coinfección pulmonar por Nocardia cyriacigeorgica y Aspergillus fumigatus. *Revista Española de Quimioterapia, 30,* (2);123-126. https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_30_2_trastoy08feb2017.pdf

Tratamiento del cáncer cervicouterino, en segundo y tercer nivel de atención. (2017). Instituto Mexicano Del Seguro Social. https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/333GER.pdf

Tratamientos contra el cáncer. (2024). Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. https://www.cdc.gov/cancer-survivors/es/patients/treatments.html

Universitat de´Alacant. (2022). Microscopía Electrónica de Transmisión. https://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-demicroscopia/microscopia-electronica-de-transmision.html

Venegas Casanova, E. (2012). Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de Thea sinensis L. y su capacidad antioxidante.

UCV – SCIENTIA, 4 (2). 161-174. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4369412

Venil, C.K., Malathi, M., Velmurugan, P., & Renuka Devi, P. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using canthaxanthin from dietzia maris AURCCBT01 and their cytotoxic properties against human keratinocyte cell line. *Journal of Applied Microbiology, 130* (5), 20-22. https:/doi.org/10.1111/jam.14889

Vera García, P.F., Guerrero Dimas, L.A., Cedillo Portillo, J.J., Martínez Anguiano O.A., Sáenz Galindo, A., Narro Cespedes, R.I., Acuña Vazquez, P. & Castañeda Facio, A. (2023). PVA Blends and Nanocomposites, Properties and Applications: A Review. Green-Based Nanocomposite Materials and Applications. Editorial Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-031-18428-4

Winanda, W., Batubara, I. & Lestari, Y. (2021). Pancreatic Lipase Inhibitory Activity of Endophytic Actinobacteria from *Rhododendron* spp. *Journal of Biology & Biology Education*, *13* (2), 178-184. http://dx.doi.org/10.15294/biosaintifika.v13i2.29981

Zarate-Jiménez, A. C. (2019). Validación de la técnica de DPPH-CLAR como método para la actividad antioxidante de metabolitos secundarios lipofílicos extraídos de actinobacterias. [Tesis Licenciatura, Universidad Autónoma Metropolitana]. Repositorio UAM Xochimilco. https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/26199

Zea Álvarez, J. L., Talavera Núñez, M. E., Arenas Chávez, C. (2019). Obtención y caracterización del nanocomposito: nanopartículas de plata y carboximetilquitosano (NPsAg-CMQ). *Revista de la Sociedad de Química de Perú, 85,* (1); 8-9. http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v85n1/a03v85n1.pdf

12. ANEXO 1

Figura 29. Electroferograma gen 16S ADNr cepa *Dietzia maris* (Joc-8).

Figura 30. Electroferograma gen 16S ADNr cepa *Dietzia maris* (Joc-9).

Figura 31. Electroferograma gen 16S ADNr cepa *Nocardia corallina* (*N. corallina*).

Tabla 37. Valores de absorbancia por espectroscopia UV.

Tiempo (Días)	*Dietzia maris* (Joc-8)	*Dietzia maris* (Joc-9)	*Nocardia corallina* (*N. corallina*)
	Absorbancia λ 525 nm (Unidades de densidad óptica)		
T°	0.188	0.027	0.192
1	1.04	0.634	1.08
2	1.745	1.148	1.848
3	2.603	1.692	2.652
4	2.653	1.784	2.694
5	2.692	1.795	2.602
6	2.783	1.755	2.724
7	2.601	1.606	2.317

Tabla 38. Valores de RF´s de los extractos con hexano en cromatografía en capa fina (CCF) en fase móvil Hexano: acetato de etilo.

Proporción	Extracto	Punto	Revelador	Valor Rf
100%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	Uv	0.75
		a	Sulfató Cérico	0.77
	Dietzia maris (Joc-9)	a	Uv	0.71
		a	Sulfató Cérico	0.71
		b		0.77
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.71
		a	Sulfató Cérico	0.71
		b		0.81
95 %: 5%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.92
		a	Sulfató Cérico	0.92
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.92
		a	Sulfató Cérico	0.92
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.94
		a	Sulfató Cérico	0.94

80 %: 20%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.80
		a	Sulfató Cérico	0.80
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.80
		a	Sulfató Cérico	0.80
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.82
		a	Sulfató Cérico	0.82
50 %:50%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	Uv	0.42
		a	Sulfató Cérico	0.75
		b		0.81
	Dietzia maris (Joc-9)	a	Uv	0.48
		a	Sulfató Cérico	0.71
		b		0.77
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.50
		a	Sulfató Cérico	0.81

Tabla 39. Valores de RF´s de los extractos con hexano en cromatografía en capa fina (CCF) en fase móvil Acetonitrilo: Agua en distintas proporciones

Proporción	Extracto	Punto	Revelador	Valor Rf
100%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.86
		a	Sulfató Cérico	0.86
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.89
		a	Sulfató Cérico	0.89
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.86
		a	Sulfató Cérico	0.86
80 %: 20 %	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.82
		a	Sulfató Cérico	0.82
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.82
		a	Sulfató Cérico	0.82
	Nocardia corallina (*N.*	a	UV	0.82

	corallina)	a	Sulfató Cérico	0.82
70 %: 30%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.90
		a	Sulfató Cérico	0.90
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.90
		a	Sulfató Cérico	0.90
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.90
		a	Sulfató Cérico	0.90
50 %: 50%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.85
		a	Sulfató C.	0.85
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.85
		a	Sulfató Cérico	0.85
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.87
		a	Sulfató Cérico	0.87

Tabla 40. Valores de RF´s de los extractos con acetato de etilo en cromatografía en capa fina (CCF) en fase móvil Hexano: acetato de etilo en distintas proporciones.

Proporción	Extracto	Punto	Revelador	Valor Rf
100%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.47
		a	Sulfató Cérico	0.75
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.51
		a	Sulfató Cérico	0.73
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.49
		a	Sulfató Cérico	0.78
95 %: 5%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.96
		a	Sulfató Cérico	0.96
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.94
		a	Sulfató Cérico	0.94
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.96
		a	Sulfató Cérico	0.96

80 %: 20%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.79
		a	Sulfató Cérico	0.79
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.79
		a	Sulfató Cérico	0.79
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.77
		a	Sulfató Cérico	0.77
50 %: 50 %	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.75
		a	Sulfató Cérico	0.82
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.73
		a	Sulfató Cérico	0.82
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.71
		a	Sulfató Cérico	0.82

Tabla 41. Valores de RF´s de los extractos con acetato de etilo en cromatografía en capa fina (CCF)en fase móvil Acetonitrilo: Agua en distintas proporciones

Proporción	Extracto	Punto	Revelador	Valor Rf
100%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.86
		a	Sulfató Cérico	0.77
		b		0.86
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.88
		b	Sulfató Cérico	0.88
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.88
		b	Sulfató Cérico	0.88
80 %: 20 %	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.77
		a	Sulfató Cérico	0.77
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.77
		a	Sulfató Cérico	0.77
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.77
		a	Sulfató Cérico	0.77
70 %: 30%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.62

		b		0.90
		a	Sulfató Cérico	0.90
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.90
		a	Sulfató Cérico	0.90
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.88
		a	Sulfató Cérico	0.88
50 %: 50%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.77
		b		0.85
		a	Sulfató Cérico	0.85
	Dietzia maris	a	UV	0.79
		b		0.90
		a	Sulfató Cérico	0.90
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.90
		a	Sulfató Cérico	0.90

Tabla 42. Valores de RF´s de los extractos con metanol en cromatografía en capa fina (CCF) en fase móvil Hexano: acetato de etilo en distintas proporciones.

Proporción	Extracto	Punto	Revelador	Valor Rf
100%	*Dietzia maris* (Joc-8)	-	UV	-
		a	Sulfató Cérico	0.73
	Dietzia maris (Joc-9)	-	UV	-
		a	Sulfató Cérico	0.75
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	-	UV	-
		a	Sulfató Cérico	0.75
95 %: 5%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.93
		a	Sulfató Cérico	0.31
		b		0.93
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.93
		a	Sulfató Cérico	0.31
		b		0.93
	Nocardia corallina (*N.*	a	UV	0.95

	corallina)	a	Sulfató Cérico	0.95
80 %: 20%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.65
		a	Sulfató Cérico	0.65
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.64
		a	Sulfató Cérico	0.64
		b		0.73
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.65
		a	Sulfató Cérico	0.65
		b		0.73
50 %: 50 %	*Dietzia maris* (Joc-8)	-	UV	-
		a	Sulfató Cérico	0.37
		b		0.83
	Dietzia maris (Joc-9)	-	UV	
		a	Sulfató cérico	0.35
		b		0.81
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	-	UV	
		-	Sulfató Cérico	

Tabla 43. Valores de RF´s de los extractos con metanol en cromatografía en capa fina (CCF) en fase móvil Acetonitrilo: Agua en distintas proporciones.

Proporción	Extracto	Punto	Revelador	Valor Rf
100%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.88
		a	Sulfató Cérico	0.88
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.86
		a	Sulfató Cérico	0.86
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.86
		a	Sulfató Cérico	0.86
80 %: 20 %	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.45
		b		0.57
		c		0.86
		a	Sulfató Cérico	0.45

		b		0.57
		c		0.61
		d		0.86
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.45
		b		0.57
		c		0.86
		a	Sulfató Cérico	0.45
		b		0.57
		c		0.61
		d		0.86
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.45
		b		0.57
		c		0.86
		a	Sulfató Cérico	0.57
		b		0.86
70 %: 30%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.52
		b		0.64
		c		0.90
		a	Sulfató Cérico	0.36
		b		0.64
		c		0.80
		d		0.90
	Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.52
		b		0.66
		c		0.86
		a	Sulfató Cérico	0.30
		b		0.66
		c		0.80
		d		0.86
	Nocardia corallina (*N.*	a	UV	0.54

	corallina)	b		0.64
		c		0.90
		a	Sulfató Cérico	0.34
		b		0.64
		c		0.90
50 %: 50%	*Dietzia maris* (Joc-8)	a	UV	0.78
		b		0.87
		a	Sulfató Cérico	0.78
		b		0.87
	*Dietzia maris (*Joc-9)	a	UV	0.80
		b		0.89
		a	Sulfató Cérico	0.80
		b		0.89
	Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.80
		b		0.89
		a	Sulfató Cérico	0.80
		b		0.89

Tabla 44. Valores de RF´s de los extractos de metanol directo en cromatografía en capa fina (CCF) en fase móvil Acetonitrilo: Agua (70%:30%).

Extracto	Punto	Revelador	Valor Rf
Dietzia maris (Joc-8)	a	UV	0.2
	b		0.3
	c		0.4
	d		0.5
	e		0.7
	f		0.9
	a	Sulfato Cerico	0.4
	b		0.5
	c		0.7

	d		0.9
Dietzia maris (Joc-9)	a	UV	0.2
	b		0.3
	c		0.4
	d		0.5
	e		0.7
	f		0.9
	a	Sulfato Cerico	0.3
	b		0.5
	c		0.7
	d		0.9
Nocardia corallina (*N. corallina*)	a	UV	0.2
	b		0.3
	c		0.4
	d		0.5
	e		0.7
	f		0.9
	a	Sulfato Cerico	0.4
	b		0.5
	c		0.7
	d		0.9

Tabla 45. Resultados de la curva de calibración de taninos totales a 700 nm.

Concentración (mg/mL)	1ra repetición	2da repetición	3ra repetición	Promedio	Desviación estándar
0.2	0.0038	0.004	0.0036	0.0038	0.0002
0.4	0.0054	0.0067	0.0063	0.0061	0.0007
0.6	0.0077	0.0099	0.0078	0.0085	0.0012
0.8	0.0102	0.0097	0.0104	0.0101	0.0004
1	0.0111	0.0129	0.0128	0.0123	0.0010
1.5	0.0187	0.0166	0.0173	0.0175	0.0011
2	0.0227	0.0218	0.0225	0.0223	0.0005

Tabla 46. Resultados de la curva de calibración de flavonoides totales a 258 nm.

Concentración (mg/mL)	1ra repetición	2da repetición	3ra repetición	Promedio	Desviación estándar
0.4	0.1241	0.1246	0.1149	0.1212	0.004
0.5	0.1584	0.1637	0.1572	0.1598	0.003
1	0.2238	0.2343	0.3687	0.2756	0.066
1.2	0.3532	0.3437	0.3057	0.3342	0.021
1.5	0.4125	0.4116	0.4122	0.4121	0.000
1.6	0.4672	0.4724	0.4673	0.4690	0.002
1.7	0.5328	0.4329	0.5121	0.4926	0.043

Tabla 47. Resultados de la curva de calibración de fenoles totales a 760 nm.

Concentración (mg/mL)	1ra repetición	2da repetición	3ra repetición	Promedio	Desviación estándar
0.1	0.1648	0.1548	0.1544	0.1580	0.005
0.2	0.3265	0.3286	0.3430	0.3327	0.007
0.3	0.4749	0.4468	0.4761	0.4659	0.014
0.4	0.6713	0.6519	0.6619	0.6617	0.008
0.5	0.8346	0.8684	0.8380	0.8470	0.015

Tabla 48. Resultados de la curva de calibración de azúcares totales a 490 nm.

Concentración (mg/mL)	1ra repetición	2da repetición	3ra repetición	Promedio	Desviación estándar
0.2	0.0091	0.0051	0.0026	0.0056	0.003
0.4	0.0179	0.0075	0.0079	0.0111	0.006
0.6	0.0295	0.0128	0.0105	0.0176	0.010
0.8	0.0331	0.0154	0.0156	0.0214	0.010
1	0.0385	0.0180	0.0232	0.0266	0.011

Tabla 49. Resultados de la curva de calibración de alcaloides totales a 470 nm.

Concentración (mg/mL)	1ra repetición	2da repetición	3ra repetición	Promedio	Desviación estándar
0.4	0.0109	0.0109	0.0112	0.0110	0.000
0.6	0.0163	0.0137	0.0173	0.0158	0.002
0.8	0.0221	0.0165	0.0192	0.0193	0.003
1	0.025	0.0193	0.025	0.0231	0.003
1.2	0.0278	0.025	0.029	0.0273	0.002

Tabla 50. Resultados de la curva de calibración de proteínas totales a 595 nm.

Concentración (mg/mL)	1ra repetición	2da repetición	3ra repetición	Promedio	Desviación estándar
0.1	0.0232	0.022	0.0215	0.0222	0.0009
0.2	0.0434	0.0435	0.0437	0.0435	0.0002
0.4	0.0764	0.0754	0.0775	0.0764	0.0011
0.5	0.0948	0.0989	0.0975	0.0971	0.0021
0.6	0.1065	0.1094	0.1084	0.1081	0.0015
0.8	0.1538	0.1518	0.1534	0.1530	0.0011
1	0.1887	0.1898	0.1918	0.1901	0.0016

Tabla 51. Resultados de % inhibición del radical DPPH de los extractos metanólicos.

Volumen de extracto (µL)	*Dietzia maris* (Joc-8)	*Dietzia maris* (Joc-9)	*Nocardia corallina* (*N. corallina*)
0	11.67	3.20	11.65
10	21.48	16.55	16.81
25	33.89	24.03	28.40
50	54.59	45.31	48.18
75	69.54	61.20	71.55
100	87.95	82.35	87.01
Valor de coeficiente de determinación (R^2)	0.9959	0.9949	0.9966

Tabla 52. Resultados de % inhibición del radical $ABTS^+$ de los extractos metanólicos.

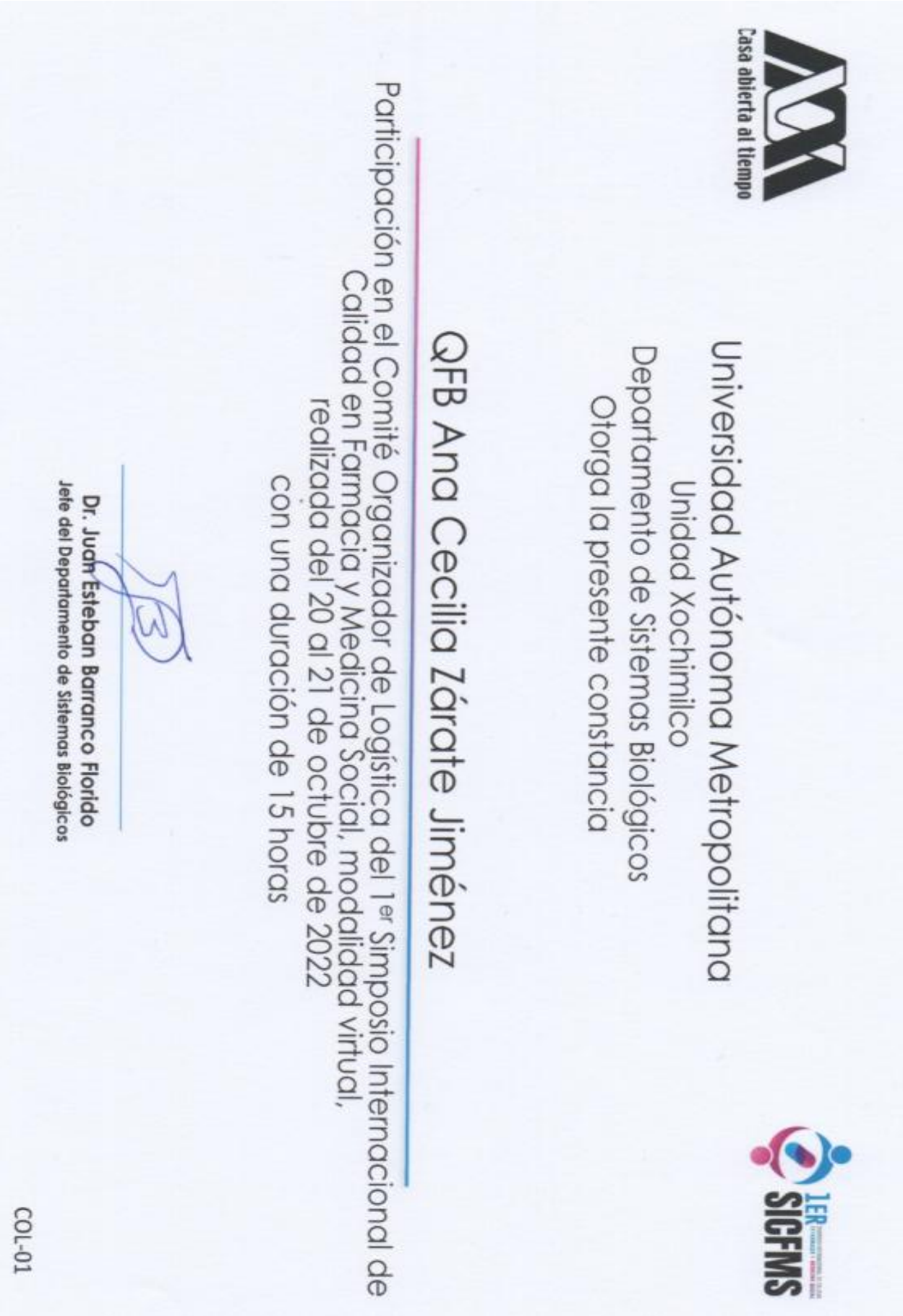
Volumen de extracto (µL)	*Dietzia maris* (Joc-8)	*Dietzia maris* (Joc-9)	*Nocardia corallina* (*N. corallina*)
0	15.83	12.32	15.74
10	22.25	19.40	24.11
25	30.48	30.00	34.28
50	46.12	43.75	46.74
75	58.49	55.73	61.29
100	72.47	66.43	74.99
Valor de coeficiente de determinación (R^2)	0.9988	0.9915	0.9964

Tabla 53. Resultados de la caracterización de las *AgNPs* obtenidas con cada extracto metanólico.

		Repetición						Promedio	Desviación estándar
		1ra	2da	3ra	4ta	5ta	6ta		
***AgNP* (Joc-8)**	λ máxima (nm)	400	401	400	400	401	400	400	0.52
***AgNp* (*N. corallina*)**	λ máxima (nm)	410	410	410	409	410	410	410	0.41

13. ANEXO 2. EVENTOS CIENTÍFICOS, CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN Y PUBLICACIONES CIENTÍFICAS

13.1. 1er Simposio Internacional de Calidad en Farmacia y Medicina Social



Casa abierta al tiempo

Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco
Departamento de Sistemas Biológicos
Otorga la presente constancia

QFB Ana Cecilia Zárate Jiménez

Participación en el Comité Organizador de Logística del 1er Simposio Internacional de Calidad en Farmacia y Medicina Social, modalidad virtual, realizada del 20 al 21 de octubre de 2022 con una duración de 15 horas

Dr. Juan Esteban Barranco Florido
Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos

1ER SICFMS

COL-01

13.2. Avances de las mujeres en la ciencia

Resumen

Las *Actinobacterias*, especialmente las de origen marino, son destacados productores de metabolitos secundarios con un alto valor en la industria farmacéutica y biotecnológica. Estas bacterias aerobias presentan una diversidad morfológica amplia principalmente, principalmente en forma de cocoides. Se distribuyen extensamente en entornos acuáticos y terrestres, prosperando en condiciones extremas de temperatura y salinidad, lo que las convierte en microorganismos altamente versátiles. Su potencial radica en su capacidad para sintetizar metabolitos secundarios, lo que los convierte en componentes cruciales en la elaboración de medicamentos. Las *Actinobacterias* son fuentes fundamentales de antibióticos como la eritromicina, así como de compuestos antifúngicos, como la anfotericina B y otros con propiedades antitumorales y antivirales, como la bleomicina y la Antimicina A1a. Además, estas bacterias desempeñan un papel esencial en la agricultura. Participan en la descomposición de la materia orgánica y en el ciclo de nutrientes, contribuyendo a una agricultura más eficiente y sostenible. Las *Actinobacterias* también tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico, promoviendo el crecimiento de las plantas y brindándoles protección contra patógenos. En la industria alimentaria, las *Actinobacterias* encuentran aplicaciones en la producción de alimentos fermentados, como quesos, yogures y embutidos, aportando sabor y textura característicos a estos productos. las *Actinobacterias* no solo son productoras cruciales de compuestos bioactivos para la farmacología, la agricultura y la industria alimentaria, sino que también desempeñan un papel destacado en la síntesis de nanopartículas metálicas con aplicaciones prometedoras en la medicina. Su potencial en la producción de nanopartículas subraya aún más su importancia en la investigación y la innovación científica. Este proceso de síntesis involucra la utilización de metabolitos secundarios secretados por estas bacterias como agentes reductores y estabilizadores. las nanopartículas pueden usarse como sistemas de entrega de medicamentos altamente eficientes y específicos, mejorando la eficacia de los tratamientos y reduciendo los efectos secundarios.

Palabras clave: (Actinobacteria[1], Metabolitos[2], Medicamentos[3], Descomposición[4], AgNp[5]).

Avances de las MUJERES EN LAS CIENCIAS las humanidades y todas las disciplinas

VIII CONGRESO INTERNACIONAL
Cambio Climático, Educación y Desarrollo Científico

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

El comité multidisciplinario y organizador otorgan la presente

CONSTANCIA

a:

Ana Cecilia Zarate Jimenez

Por su participación como **ponente** con el tema:

De las profundidades marinas a nuestros remedios:
El potencial terapéutico de las actinobacterias y su influencia en diversos campos

En el **"VIII Congreso de Avances de las Mujeres en las Ciencias, las Humanidades y todas las disciplinas"** Cambio Climático, Educación y Desarrollo Científico.
Celebrado en la Ciudad de México los días 23, 24 y 25 de agosto del 2023.
En la Universidad Autónoma Metropoliana Metropolitana, Unidad Xochimilco.

Mtra. Gabriela del Valle Díaz Muñoz
Coordinadora General

Dr. Hiram Isaac Beltrán Conde
Comité multidisciplinario y organizador

50 UAM Casa abierta al tiempo

13.3. Participación en conferencias en IPN Zacatenco

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a

Ana Cecilia Zárate Jiménez

por su participación como ponente en las conferencias sobre

LOS DERECHOS HUMANOS EN POBLACIONES DIVERSAS Y PREVENCIÓN DE ITS

llevada a cabo el 28 de marzo del 2023, en la ENCB Zacatenco

"La Técnica al Servicio de la Patria"

M. en C. Yadira Fonseca Sabater
Maestra Decana de la ENCB
quien asume las funciones de Dirección

COLABORACIÓN DEL COLECTIVO ALFA Y LA CLÍNICA ESPECIALIZADA CONDESA CUAUHTÉMOC

13.4. Participación en las reuniones semanales de la asociación DiVU para la población LGBTI+

Resumen

Las *Actinobacterias* son un grupo diverso de bacterias Gram-positivas que se caracterizan por tener una forma filamentosa similar a la de los hongos. Estas bacterias son ampliamente reconocidas en el campo de la medicina debido a su importancia en la producción de numerosos compuestos bioactivos con propiedades terapéuticas. Un ejemplo destacado de actinobacteria es el género Streptomyces, que ha sido una fuente invaluable de antibióticos. De hecho, la mayoría de los antibióticos utilizados en la medicina provienen de estas bacterias. La penicilina, la eritromicina, la vancomicina y la tetraciclina son solo algunos ejemplos de antibióticos derivados de estas bacterias. Además de los antibióticos, las *Actinobacterias* también son conocidas por producir otros compuestos bioactivos, como antifúngicos, antitumorales, inmunosupresores y agentes antivirales. Estos compuestos son de gran interés para la industria farmacéutica y son utilizados en el desarrollo de medicamentos para tratar diversas enfermedades. las *Actinobacterias* desempeñan también un papel importante en la síntesis de nanopartículas mediante la producción de enzimas reductoras. Estas nanopartículas tienen aplicaciones prometedoras en la medicina, incluyendo la prevención de infecciones, la detección de enfermedades y la entrega de medicamentos. Además de su importancia en la producción de compuestos bioactivos, las *Actinobacterias* también desempeñan un papel crucial en el ciclo de los nutrientes en el suelo y tienen efectos beneficiosos en la agricultura. Por ejemplo, algunas *Actinobacterias* pueden fijar el nitrógeno atmosférico y hacerlo disponible para las plantas, lo que mejora la productividad agrícola.

RFC: DDC1704053H4

DiVU: Diversidad, cultura, género, alimentación y ciencia A.C.

Otorga el presente reconocimiento a:

Ana Cecilia Zarate Jiménez

Por su ponencia: La importancia de las actinobacterias en el campo de la medicina

Durate las reuniones semanales de la asociación, en un evento realizado para la población LGBTI+, grupos vulnerables y grupo de base de DiVU en la librería Somos Voces en la CDMX el día: 19 de julio del 2023.

Dr. L. Fernando Patlan Velázquez

13.5. Primera Semana CON-CIENCIA 2023

Resumen

Entre los principales productores de metabolitos secundarios de interés farmacéutico se encuentran las *Actinobacterias*; sobre todo las de origen marino por ende se consideran con gran importancia en la biotecnológica y farmacéutica. Las *Actinobacterias* son bacterias aerobias que presentan una amplia variedad de morfologías (principalmente cocoides). Tienen una amplia distribución en ambientes tanto acuáticos como terrestres en condiciones extremas de temperaturas, salinidad, alcalinidad y acidez por lo que las hacen muy versátiles. Debido a lo anterior y su capacidad para producir compuestos bioactivos son de gran importancia para la creación de medicamentos3 dado que las *Actinobacterias* son una fuente importante de antibióticos como la penicilina y la eritromicina.2 Además, también producen compuestos con propiedades antifúngicas como la anfotericina B y Nistatina, antitumorales como la bleomicina y antivirales como la rifampicina. Sin embargo, también son importantes en el área de la agricultura ya que participan en la descomposición de la materia orgánica y en el ciclo de los nutrientes, también las *Actinobacterias* tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico y así promover el crecimiento de las plantas, así como protegerlas contra patógenos, lo que contribuye a una agricultura más eficiente y sostenible. igualmente, en la industria alimentaria estas bacterias son utilizadas en la producción de alimentos fermentados, como quesos, yogures y embutidos. Por lo anterior mencionado las *Actinobacterias* se convierten en organismos de gran importancia en numerosos campos.

MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS FARMACÉUTICA

Casa abierta al tiempo

PRIMERA SEMANA CON-CIENCIA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Xochimilco

Maestría y Doctorado en Ciencias Farmacéuticas

Otorgan el presente

RECONOCIMIENTO

A Ana Cecilia Zárate Jimenez, Lucía Ortega Cabello, Liliana Hernández Vázquez, Aida Hamdan Partida

Por haber presentado la INFOGRAFÍA titulada:

¿Sabías que existen bacterias en los sedimentos marinos que son de gran importancia para los humanos?

En el evento

PRIMERA SEMANA CON-CIENCIA EN LA UAM-XOCHIMILCO

Llevado a cabo los días 16,17 y 18 de agosto

Ciudad de México, 18 de agosto de 2023

DR. MARTÍN GÓMEZ HERNÁNDEZ
Coordinador de la Maestría y Doctorado en Ciencias Farmacéutcas

DR. LUIS A. AYALA PÉREZ
Director de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

DRA. BEATRÍZ GODÍNEZ CHAPARRO
Presidente del comité Organizador

MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS FARMACÉUTICA

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco
Maestría y Doctorado en Ciencias Farmacéuticas

Otorgan el presente

RECONOCIMIENTO

A Ana Cecilia Zárate Jiménez

Por haber participado en el Comité Organizador del evento:

PRIMERA SEMANA CON-CIENCIA EN LA UAM-XOCHIMILCO

Llevado a cabo los días 16,17 y 18 de agosto
Ciudad de México, 18 de agosto de 2023

DR. MARTÍN GÓMEZ HERNÁNDEZ
Coordinador de la Maestría y Doctorado en Ciencias Farmacéutcas

DR. LUIS A. AYALA PÉREZ
Director de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

DRA. BEATRÍZ GODÍNEZ CHAPARRO
Presidente del comité Organizador

13.6. V congreso de investigadoras del SNI y de Iberoamérica

Resumen

Las *Actinobacterias* son un grupo de bacterias de gran importancia biotecnológica debido a su capacidad para producir una amplia variedad de compuestos útiles en la industria alimentaria, farmacéutica y en la biorremediación. Estas bacterias son Gram-positivas, aerobias, presentan una amplia variedad de morfologías tienen una amplia distribución en ambientes terrestres y marinos, teniendo este último condiciones extremas de temperatura, salinidad, y presión. Las *Actinobacterias* tienen una gran relevancia, la capacidad de sintetizar nanopartículas metálicas debido a los antioxidantes que producen, así como por enzimas oxidorreductasas, los cuales permiten reducir iones metálicos seguido por el proceso de nucleación para posteriormente estabilizarlos con metabolitos complementarios como proteínas y azúcares, haciendo la síntesis de nanopartículas metálicas un proceso con un impacto ambiental menor. Dichas nanopartículas tienen diversas aplicaciones en el campo de la medicina, desde su uso como marcadores para diagnóstico, debido a sus propiedades ópticas, hasta actividades terapéuticas como antimicrobianas y antineoplásicas debido a su capacidad para producir especies reactivas de oxígeno llevando al daño celular. Dichas nanopartículas metálicas han sido sintetizadas por *Actinobacterias* de los géneros Streptomyces, Nocardia y Rhodococcus. Por lo que su estudio y aplicación continúa siendo de gran interés en la investigación.

UAT Secretaría de Educación

CONGRESO DE INVESTIGADORAS DE IBEROAMÉRICA
9, 10 Y 11 DE NOVIEMBRE DE 2023
TAMPICO, TAMPS

COTACYT Consejo Tamaulipeco de Ciencia y Tecnología

BUAP

V CONGRESO DE INVESTIGADORAS DEL SNI Y DE IBEROAMÉRICA

Otorga la presente

CONSTANCIA

a:

ANA CECILIA ZARATE JIMENEZ

Por su destacada participación con el **CARTEL** denominado **Uso de actinobacterias en la síntesis de nanopartículas metálicas con actividad terapéutica**, realizada el día 10 de noviembre de 2023, en la Ciudad y Puerto de Tampico, Tamaulipas, México.

Dra. Angélica Mendieta Ramírez
Directora de la Facultad de Ciencias de la Comunicación
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Presidenta del Congreso

Dra. Elda Margarita Hernández Rejón
Directora del Centro de Estudios Territoriales y del Hábitat
Facultad de Ingeniería Tampico, Universidad Autónoma de Tamaulipas
Vicepresidenta del Congreso

13.7. Publicación de Articulo Científico

Resumen

Las *Actinobacterias* son un grupo diverso de bacterias Gram positivos con morfología variada, que incluye principalmente las formas cocoides. Las cuales han capturado la atención debido a su capacidad multifacética en diversos entornos como es el ambiental, alimentaria y farmacéutica. Sin embargo, es en este último donde revelan su mayor potencial, ya que los metabolitos secundarios que liberan poseen propiedades antitumorales, antivirales, antibióticas y antifúngicas. No obstante, otro potencial de las *Actinobacterias* es la síntesis verde, facilitada por antioxidantes derivados de sus metabolitos secundarios. Esto permite la producción de nanopartículas metálicas (mNP) estables en diversas formas y tamaños. Están principalmente compuestas de oro y plata; a las cuales se les ha encontrado aplicaciones en la detección temprana de enfermedades, el transporte selectivo de fármacos y la promoción de la formación de nuevos tejidos. Además, en el ámbito farmacéutico, muestran propiedades terapéuticas como antibióticos, antivirales y antitumorales. Estas características hacen de las mNP herramientas versátiles y prometedoras en diversas áreas tanto científicas como tecnológicas. Sin embargo, también conlleva desafíos éticos, ambientales y en la seguridad en su uso especialmente en aplicaciones médicas. La estandarización de la síntesis y la comprensión de cómo estas nanopartículas interactúan con el entorno son esenciales para su producción a gran escala, así como en su aplicación práctica. En última instancia, la investigación continua tanto en las *Actinobacterias* como en las mNP que prometen llevarnos a un futuro donde estas brindan soluciones innovadoras y sostenibles para los desafíos que enfrenta la humanidad.

PALABRAS CLAVE (nanotecnología, Síntesis Verde, mNP, *Actinobacterias*, Metabolitos Secundarios)

Universidad Autónoma de TAMAULIPAS

Facultad de Derecho y Ciencias Sociales
FADYCS

Tampico, Tamaulipas., a 30 de junio de 2024
Oficio.024/2024/HF

CONSTANCIA DE PUBLICACIÓN

A QUIEN CORRESPONDA
PRESENTE

El que suscribe **C. ENNIO HÉCTOR CARRO PÉREZ** en calidad de Editor General de la revista Historias de Fengacos, (ISSN electrónico: en trámite) y Reserva de Derechos de Uso Exclusivo (versión electrónica) No. 04-2023-070713040900-102, que edita la Universidad Autónoma de Tamaulipas a través del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico Aplicado al Comportamiento (CIDETAC) de la Facultad de Derecho y Ciencias Sociales, hace constar que la aportación original titulada:

"USO DE ACTINOBACTERIAS EN LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS CON ACTIVIDAD TERAPÉUTICA"

de las autoras **C. Ana Cecilia Zarate Jiménez, C. Lucía Ortega Cabello, C. Liliana Hernández Vázquez y C. Aida Hamdan Partida** ha sido **publicada** en el **Vol. 1 Núm. 1,** correspondiente al periodo enero-junio de 2024, el cual se encuentra disponible en su versión electrónica en https://fengacos.uat.edu.mx/index.php/fengacos

ATENTAMENTE

Dr. Ennio Héctor Carro Pérez
Editor General de Historias de Fengacos

Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico Aplicado al Comportamiento
Centro Universitario Sur
Tampico
C.P. 89109.
(833) 241 2000
Ext. 3776
fadycs.uat.edu.mx