



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Actividad antimicrobiana y síntesis de nanopartículas a partir de extractos de
Porophyllum ruderale (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.

Tesis que para obtener el grado de
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Biól. Alma Rosa Rodríguez López

DIRECTORA: DRA. ROCÍO PÉREZ Y TERRÓN

CODIRECTORA: DRA. VERÓNICA CEPEDA CORNEJO

COMITÉ TUTORIAL:

DRA. AGUSTINA ROSA ANDRÉS HERNÁNDEZ

DR. MARLON ROJAS LÓPEZ

Diciembre 2023



Asunto: Autorización para la versión digital/impresión del escrito final de la tesis

**Comité Académico del Posgrado
PRESENTE**



Por este conducto informo a ustedes, que como director y codirector de la estudiante: **Alma Rosa Rodríguez López**, he revisado en su totalidad la versión final del escrito de la tesis que lleva por título: “**Actividad antimicrobiana y síntesis de nanopartículas a partir de extractos de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.**”, confirmando que la estudiante atendió adecuadamente los comentarios realizados por los miembros del comité revisor/Jurado de Examen que le fue asignado, mismos que han sido integrados en la versión presentada.

La versión digital está lista para que se confirme que se cumplió con el formato que indican los lineamientos del escrito de la tesis que establece el programa de posgrado. Por ello, puede procederse a la generación de la versión final digital/impresa.

Sin otro particular, se envía un cordial saludo.

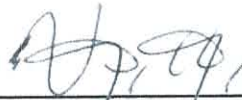
**ATENTAMENTE
H. Puebla de Z. a 17 de noviembre de 2023**



Alma Rosa Rodríguez López



Dra. Rocío Pérez y Terrón



Dra. Verónica Cepeda Cornejo



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

H. Puebla de Z. a 16 de noviembre de 2023

Asunto: Voto Aprobatorio

Comité Académico del Posgrado
PRESENTE



Por medio de la presente se hace constar que se revisó y aprobó la tesis titulada:

“(Actividad antimicrobiana y síntesis de nanopartículas a partir de extractos de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.)”

Que presenta la estudiante **Alma Rosa Rodríguez López** con número de matrícula **221470310**, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, de la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: **“Estructura y funcionamiento de los seres vivos”**, notificamos que la tesis reúne los requisitos y se aprueba para su réplica oral en el examen de grado.

Por lo tanto, emitimos los **VOTOS APROBATORIOS** como miembros del **Comité de Jurado de Examen de Grado** como a continuación se indica:

Tutor Interno: Dra. Agustina Rosa Andrés Hernández

Tutor Externo: Dr. Marlon Rojas López

Revisor: Dra. Laura Morales Lara

Agradecemos de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.



2023 Año de Francisco Villa
30 Aniversario de la Declaración sobre
la Eliminación de la Violencia contra la Mujer (ONU)
80 Aniversario del CECyT 7 "Cuauhtémoc" y del CENAC
90 Aniversario de la Escuela Superior de Ingeniería Textil
40 Aniversario del CIDIIR, Unidad Oaxaca

Asunto: Voto Aprobatorio

**Comité Académico del Posgrado
Maestría en Ciencias Biológicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE**

Como miembro del Comité revisor, después de haber dado lectura al manuscrito de la tesis titulada "**Actividad antimicrobiana y síntesis de nanopartículas a partir de extractos de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.**" de la estudiante Rodríguez López Alma Rosa, con número de matrícula **221470310**, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, considero que reúne los requisitos para su defensa. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO** y autorizo la réplica oral en el examen de grado.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

**Atentamente
Revisor de Tesis para Examen de Grado**

Dr. Marlon Rojas López



Asunto: Voto Aprobatorio

**Comité Académico del Posgrado
Maestría en Ciencias Biológicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE**

Como miembro del Comité revisor, después de haber dado lectura al manuscrito de la tesis titulada “**Actividad antimicrobiana y síntesis de nanopartículas a partir de extractos de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.**” de la estudiante Rodríguez López Alma Rosa, con número de matrícula **221470310**, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, considero que reúne los requisitos para su defensa. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO** y autorizo la réplica oral en el examen de grado.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

**Atentamente
Revisor de Tesis para Examen de Grado**

AGUSTINA ROSA ANDRÉS HERNÁNDEZ



Asunto: Voto Aprobatorio

Comité Académico del Posgrado
Maestría en Ciencias Biológicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Como miembro del Comité revisor, después de haber dado lectura al manuscrito de la tesis titulada "**Actividad antimicrobiana y síntesis de nanopartículas a partir de extractos de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.**" de la estudiante Rodríguez López Alma Rosa, con número de matrícula **221470310**, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, considero que reúne los requisitos para su defensa. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO** y autorizo la réplica oral en el examen de grado.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente
Revisor de Tesis para Examen de Grado



Dra. Laura Morales Lara



DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y DE NO PLAGIO

Yo, **Alma Rosa Rodríguez López**, con número de matrícula **221470310**, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas** por la **Benemérita Universidad Autónoma de Puebla** y autora de la tesis titulada “**Actividad antimicrobiana y síntesis de nanopartículas a partir de extractos de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.**”

DECLARO LO SIGUIENTE

El presente trabajo de investigación realizado para obtener el grado Maestra en Ciencias Biológicas es original no ha sido copiado. Las ideas, técnicas e imágenes no han sido utilizadas en alguna otra tesis, obra, artículo o memoria, etc. tanto en versión impresa como digital. Cada parte del escrito se deja de forma clara de donde se tomó la idea, haciendo referencia al autor o autores.

Este trabajo de investigación que está a su consideración para ser evaluado no se ha presentado para obtener un grado académico o título, además tampoco ha sido publicado en ningún sitio. Por lo consiguiente tengo claro que el no respetar los derechos de autor y de plagiar un trabajo son faltas que pueden tener consecuencias universitarias o/y legales. De modo que asumo cualquier responsabilidad ante la universidad y terceros.

H. Puebla de Zaragoza a 21 de noviembre de 2023



Biól. Alma Rosa Rodríguez López

Agradecimientos académicos

Quiero agradecer al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (Conahcyt) por darme su apoyo y ayuda durante los dos años de maestría siendo yo la becaria número 798523, pudiendo terminar en los tiempos planeados este trabajo de investigación.

También quiero agradecer a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) y a la Facultad de Ciencias Biológicas por haberme brindado su apoyo y hacer uso de sus instalaciones para realizar mi trabajo de investigación.

Agradezco a la Maestría en Ciencias Biológicas por aceptarme, darme su apoyo en cada en cada proceso que se realizaba y guiarme en cada momento.

Le agradezco a cada uno de los docentes que estuvieron presentes en las clases que lleve durante la maestría.

Agradecimientos personales

Agradezco a la Dra. Rocío Pérez y Terrón por aceptarme en su laboratorio, trabajar en conjunto, darme su apoyo para la realización del trabajo y por estar siempre al pendiente de cualquier cosa que se necesitaba tanto en el laboratorio como personal, por tenerme paciencia y generosidad.

A la Dra. Verónica Cepeda Cornejo por brindarme su apoyo para entrar a la maestría, por su generosidad en el trabajo del laboratorio, análisis estadísticos, como personal. Por enseñarme equipos de laboratorio que no sabía utilizar.

Al Dr. Marlon Rojas López por enseñarme a sintetizar nanopartículas, por conocer otro campo del conocimiento que no conocía, aceptarme a ir a trabajar unos días a CIBA, por su amabilidad para poder trasladarme hasta el centro de investigación.

A la Dra. Agustina Rosa Andrés Hernández por su apoyo en la identificación de las plantas, su amabilidad y la disposición en poder entender un tema que es un poco desconocido para ella.

Al Dr. Alan Carrasco por enseñarme a identificar los metabolitos secundarios y permitirme trabajar en su laboratorio dándome todo lo necesario para poder realizar una parte de mi proyecto de investigación en su laboratorio.

A la Dra. Laura Morales Lara por su apoyo en la revisión de la tesis.

A mis compañeros y amigos de laboratorio, Pili, Dalia, Yami, Isela, Erick, Emilio, por su ayuda y por hacer el ambiente más agradable en el laboratorio.

A mi amiga Jessy Celis por enseñarme a trabajar con bacterias, con extractos, por brindarme su amistad y apoyo en todo momento.

A mi amiga, Andrea, Tere por estar siempre conmigo, por brindarme su apoyo incondicional.

A mis padres Silvia López Reyes y Calixto Rodríguez Martínez por estar en todo momento conmigo, por darme su apoyo y comprensión.

A mi mamita Nohemi López Reyes, por su apoyo incondicional, estar ahí para mí, cuando no podía salir.

A mi abuelito Simón López Soriano por siempre darme ánimos y siempre escucharme cuando le platicaba de mi trabajo y me hacía muchas preguntas.

Dedicatoria

Esta tesis la quiero dedicar a mis papás por brindarme su apoyo incondicional, comprenderme y estar siempre ahí conmigo en todo momento.

Contenido

Resumen	1
Introducción	3
1.1 Especies vegetales en estudio	4
1.2 Clasificación taxonómica de Pápalo (<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass.).....	8
1.3 Clasificación taxonómica de Pipicha (<i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.).....	8
1.4 Metabolitos secundarios.....	9
1.5 Especies bacterianas analizadas	13
1.6 Clasificación de las especies bacterianas de acuerdo con su taxonomía	16
1.7 Resistencia antimicrobiana a antibióticos.....	16
1.8 Mecanismos de resistencia bacteriana	18
1.9 Nanopartículas	20
Antecedentes	23
Justificación	25
Pregunta de investigación	25
Hipótesis	25
Objetivo general	26
Objetivos particulares	26
Material y métodos	27
6.1 Recolección del material vegetal.....	27
6.2 Extracción de los compuestos.....	27
6.2.1 Extracción con hojas frescas.....	27
6.2.2 Extracción con hojas secas	28
6.3 Identificación de los componentes químicos	28
6.4 Evaluación de actividad antimicrobiana.....	31
6.4.1 Conteo por goteo en placa (UFC/ml).....	32
6.4.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass y <i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.....	33
6.5 Síntesis de nanopartículas	33
6.5.1 Caracterización por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	35

6.5.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana de nanopartículas de oro recubiertas con extracto de hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass y <i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.....	35
6.6 Evaluación de la actividad antioxidante.....	36
6.6.1 DPPH técnica 1	36
6.6.2 Contenido fenólico total	38
6.6.3 Contenido de flavonoides totales	39
6.6.4 FRAP (poder antioxidante reductor del ion férrico)	39
7. Estadística.....	40
8. Resultados	40
8.1 Obtención de los extractos	40
8.2 Pruebas fitoquímicas	40
8.3 Actividad Antimicrobiana	41
8.3.1 Conteo de UFC/ml.....	41
8.3.2 Pruebas bioquímicas	42
8.3.3 Análisis de crecimiento bacteriano en presencia de los extractos de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass y <i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.	43
8.3.4 Síntesis de nanopartículas y caracterización por caracterización por espectroscopía UV-Vis.....	58
8.4 Actividad antioxidante	61
8.4.1 DPPH técnica 1	61
8.4.2 DPPH ELISA técnica 2	69
8.4.3 Contenido fenólico total	70
8.4.4 Contenido de flavonoides totales	70
8.4.5 FRAP (poder antioxidante reductor del ion férrico)	70
9. Discusión	71
10. Conclusiones	75
11. Literatura citada	77
12. Anexos	91
13. Asistencia a congresos	118

Índice de figuras

Figura 1. Estados de producción de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass y <i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC. en México. Tomada de González, 2003.....	5
Figura 3. <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) tomado de Cabrera <i>et al.</i> , 1998.....	7
Figura 2. Hoja de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass.....	7
Figura 5. <i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC. tomado de Cabrera <i>et al.</i> , 1998.....	7
Figura 4. <i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.....	7
Figura 6. Metabolitos secundarios encontrados en plantas. Modificado de Ávalos <i>et al.</i> , 2009.....	10
Figura 7. Técnicas de síntesis de nanopartículas. Modificada de Gómez, 2018.....	21
Figura 8. Obtención de compuestos. A) <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass B) <i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC. C) Macerado con la solución hidroalcohólica D) Extracto sin destilar E) Destilado con rotavapor F) Membrana de 0.22µm G) Esterilización por filtración H) Extracto final.....	28
Figura 9. Conteo de UFC/ml. A) Pre-inóculo B) Diluciones C) Placas sembradas.....	32
Figura 10. Evaluación antimicrobiana con extracto de hojas frescas o secas de <i>P. ruderale</i> y <i>P. linaria</i>	33
Figuran 11. Conteo de UFC/ ml de <i>E. coli</i>	41

Tablas

Tabla 1. <i>Porophyllum ruderale</i> (Castro, <i>et al.</i> , 2011).....	8
Tabla 2. <i>Porophyllum linaria</i> (Zorrilla, 2021).....	8
Tabla 3. Bacterias en estudio.....	16
Tabla 4. Concentraciones de DPPH.....	36
Tabla 5. Concentraciones de ácido ascórbico.....	37
Tabla 6. Concentraciones del extracto para su reducción con DPPH.....	37
Tabla 7. Resultados de las pruebas fitoquímicas en <i>P. ruderale</i> y <i>P. linaria</i>	41
Tabla 8. Resultados de las pruebas bioquímicas para cada una de las especies bacterianas analizadas.....	42
Tabla 9. Listado de tratamientos utilizados.....	43
Tabla 10. Análisis de varianza de una vía extracto líquido <i>P. ruderale</i>	44
Tabla 11. Análisis de varianza de una vía extracto líquido <i>P. ruderale</i>	45
Tabla 12. Análisis de varianza de una vía extracto liofilizado <i>P. ruderale</i>	46
Tabla 13. Análisis de varianza de una vía extracto liofilizado <i>P. linaria</i>	47
Tabla 14. Análisis de varianza de una vía nanopartículas <i>P. ruderale</i>	48
Tabla 15. Análisis de varianza de una vía nanopartículas <i>P. linaria</i>	49
Tabla 16. Mejores tratamientos de <i>P. ruderale</i> y <i>P. linaria</i>	50
Tabla 17. Análisis de varianza de tres vías, tratamientos, especie vegetal y especie bacteriana...	50
Tabla 18. Prueba de efectos del análisis de varianza de tres vías tratamientos, especie vegetal, especie bacteriana y sus interacciones.....	51
Tabla 19. Tabla de frecuencias de los grupos funcionales presentes en <i>P. ruderale</i> y <i>P. linaria</i>	60
Tabla 20. % de Inhibición de Ácido ascórbico.....	61
Tabla 21. % de Inhibición de <i>P. ruderale</i>	63
Tabla 22. % de Inhibición de <i>P. linaria</i>	64
Tabla 23. % de Inhibición de <i>P. ruderale</i> AuNPs.....	66
Tabla 24. % de Inhibición de <i>P. linaria</i> AuNPs.....	67
Tabla 25. IC50. Concentración de extracto que tiene el 50% de actividad antioxidante.....	69

Tabla 26. DPPH 492 nm	69
Tabla 27. Prueba contenido fenólico total 760 nm	70
Tabla 28. Prueba contenido flavonoides totales 510 nm.....	70
Tabla 29. Prueba FRAP 593 nm.....	70

Abreviaturas

- **Pr** (*Porophyllum ruderale*) (Jacq.) Cass)
- **PI** (*Porohyllum linaria* (Cav.) DC)
- **DMAPP** (Dimetil difosfato)
- **IPP** (Isómero isopentinil difosfato)
- **LPS** (Lipopolisacárido)
- **O** (Serotipo somático)
- **H** (Serotipo flagelar)
- **K** (Serotipo capsular)
- **EMB** (Eosina azul de metileno)
- **PBP** (Proteína de unión a penicilina)
- **BLEE** (betalactamasas de espectro extendido)
- **MIO** (Movilidad indol ornitina)
- **TSI** (Agar hierro triple Azúcar)
- **LIA** (Agar hierro lisina)
- **UFC/ml** (Conteo por goteo en placa)
- **LB** (Medio Luria Bertani)
- **KPC** (Productora de carbapenemasa)
- **DO** (Densidad óptica)
- **nm** (Nanometros)
- **AgNPs** (Nanopartículas de plata)
- **Au** (Oro)
- **AuNPs** (Nanopartículas de oro)
- **HAuCl₄** (ácido tetracloroáurico)
- **PVP** (Polivinilpirrolidona)
- **CTAB** (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio)
- **FTIR** (Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier)
- **ATR** (Reflexión total atenuada)
- **DPPH** ((2,2-difenil-1-picrilhidrazil)
- **ABTS** (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)
- **FRAP** (Poder antioxidante reductor del ion férrico)
- **FeCl₃** (Cloruro férrico)
- **K₂MNO₄** (Permanganato de potasio)
- **Fe³⁺** (Ion férrico)
- **Fe²⁺** (Estado ferroso)
- **TPTZ** (Cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio)
- **A. A.** (Ácido ascórbico)

Símbolos

*: Anexos

×: Interacciones entre grupos

>: Signo mayor que

Resumen

Introducción: Las plantas han sido utilizadas por el hombre para satisfacer sus propias necesidades como la alimentación o el vestido, pero, además, uno de los principales usos es el medicinal. La definición de plantas medicinales comprende a todas aquellas que contienen principios activos como producto de su metabolismo secundario en algunos de sus órganos, los cuales, administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos en las enfermedades de humanos y de los animales en general. El uso de antibióticos fue sustituyendo la aplicación de las plantas, sin embargo, en la actualidad se presenta un problema de salud en enfermedades infecciosas, debido a que hay bacterias que son resistentes a los antibióticos.

Justificación: Es por esta razón que se buscan alternativas para combatir el problema mundial. *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC, conocidas comúnmente como pápalo y pipicha respectivamente, son consideradas plantas medicinales que tienen diversas propiedades como: antifúngica, antiinflamatoria, antileishmania, entre otras. Pero la actividad antimicrobiana no se ha estudiado a fondo, por lo que el **objetivo** de este trabajo de investigación fue evaluar actividad del extracto de hojas de *Porophyllum ruderale* y *Porophyllum linaria* para inhibir el crecimiento de las especies patógenas de humanos: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Además, se sintetizaron nanopartículas de oro recubiertas con estos extractos, para evaluar la inhibición de los patógenos mencionados, adicionalmente se realizó la evaluación de la actividad antioxidante. **Métodos:** Se realizaron pruebas fitoquímicas de las hojas de las especies vegetales para identificar los compuestos con efecto inhibitorio de las bacterias. Este efecto se determinó mediante la DO en medio líquido con tres diferentes tratamientos, extracto puro, extracto liofilizado y nanopartículas. Cada extracto se utilizó tanto en medio líquido, como en forma de liofilizado y de nanopartículas. En cuanto a la actividad antioxidante se evaluó con la técnica de DPPH, el contenido fenólico y de flavonoides totales y FRAP. Los **resultados** mostraron que los extractos tuvieron

como principales metabolitos secundarios a terpenos, alcaloides, saponinas, flavonoides y fenoles. El extracto puro tuvo una mayor actividad antimicrobiana comparada con los otros tratamientos, donde las especies bacterianas que presentaron mayor inhibición fueron *S. aureus* y *E. faecalis*. El tratamiento con nanopartículas inhibió mayormente a *E. coli* con *P. linaria* y a *S. aureus* con *P. ruderale*. La especie vegetal que tuvo la mayor actividad antimicrobiana fue *P. linaria*. En cuanto a la actividad antioxidante *P. linaria* tuvo una mayor actividad antioxidante que *P. ruderale*, lo que coincide con los resultados obtenidos en la actividad antimicrobiana. **Conclusión:** Ambas especies vegetales contienen diversos metabolitos secundarios que participan en la actividad antimicrobiana y antioxidante, además *P. linaria* fue la especie vegetal que tuvo una mayor eficiencia que *P. ruderale*.

Palabras clave: nanopartículas de oro, metabolitos secundarios, agente reductor, inhibición bacteriana, antioxidante

Introducción

El hombre ha utilizado a las plantas para satisfacer sus propias necesidades como la alimentación, vestido y uno de los principales usos que le dieron fue el medicinal y esto se remonta a hace dos millones de años en África (Chávez *et al.*, 2017). Las poblaciones humanas en México y en otras partes del mundo han constatado tener un amplio conocimiento sobre las plantas medicinales y su forma de administrarlas. La aplicación era mediante polvos secos y aceites, se utilizaban las diferentes partes de las plantas, hojas, flores, o raíz y se consumían como infusiones o en presentación homeopática y se volvió una práctica muy común, no sólo en México, también en otros países y se transmitió de generación en generación (Guzmán *et al.*, 2017, Muñetón, 2009). La definición de plantas medicinales comprende a todas aquellas que contienen principios activos en algunos de sus órganos, los cuales, administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos en las enfermedades de humanos y de los animales en general (Pérez, 2008).

La aparición de nuevos medicamentos fue sustituyendo el uso de las plantas medicinales. Un estudio realizado por el Instituto Nacional del Cáncer en Estados Unidos revela que el 67% de los medicamentos tiene su origen en fármacos sintéticos y el 25% de estos, se derivan plantas (Zurita, 2016). Se puede estimar que acerca del 80% de la población mundial recurre a remedios herbolarios tradicionales y sobre todo que en México tiene una gran diversidad de especies vegetales con propiedades medicinales (García de Alba *et al.*, 2012).

Uno de los problemas de salud que existe a nivel mundial es la resistencia antimicrobiana, se estima que para el 2050, habrá cerca de 10 millones de defunciones debido a este problema y se convertirá en una de las primeras causas de muerte, seguida por el cáncer y la diabetes (Hernández *et al.*, 2019). Esto se puede deber entre otros factores al uso indiscriminado de antimicrobianos, como en el caso de las cefalosporinas de tercera generación para *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* y la meticilina para *Staphylococcus aureus*, sin embargo, se prevé que esto irá aumentando conforme van pasando los años (Yagui, 2018). Por lo que se hace necesario investigar alternativas que no generen esta resistencia

antimicrobiana y una de ellas son las plantas ya que tienen un papel en la prevención o tratamiento en las enfermedades (Wang *et al.*, 2020). Las plantas poseen actividad antimicrobiana debido a sus componentes activos que tienen en algunas partes de su estructura, como es el caso de *Portulaca oleracea* cuyas hojas poseen propiedades antifúngicas, antimicrobiana y antivirales. Es efectiva contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Streptococcus faecalis* y tiene propiedades antifúngicas contra *Candida albicans* (Mateos *et al.*, 2020).

Otra alternativa es la síntesis verde, por ejemplo, nanopartículas recubiertas con extractos de plantas que funcionarán como agentes reductores y estabilizantes, además que no dañan el medio ambiente (Dikshit *et al.*, 2021). La síntesis con plantas o con extractos utilizan el agua como solvente, por lo tanto, no hay riesgo de toxicidad, además no requiere condiciones específicas en los métodos físicos y químicos, pero sí depende de la naturaleza de la planta, la concentración del extracto, la concentración de sal, pH, temperatura y duración de la reacción (Zhaleh *et al.*, 2019).

1.1 Especies vegetales en estudio

El género *Porophyllum* (Asteraceae) comprende alrededor de 25 especies (Vázquez, *et al.*, 2021), todas nativas del hemisferio occidental. Se cree que este género se originó durante el Mioceno tardío. El género crece en áreas tropicales y subtropicales de América del Norte y del Sur (Muñoz *et al.*, 2010). (Castro *et al.*, 2011). México alberga 17 especies del género *Porophyllum* distribuidos desde Sonora hasta Yucatán donde los principales estados de producción del género domesticado son Guerrero, Morelos, Puebla e Hidalgo, y en menor producción los estados de Querétaro, Durango, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, México, Veracruz y Oaxaca. En otros países crece en Argentina, Brasil y Perú (Vázquez *et al.*, 2021, Segura *et al.*, 2019) (Figura 1).



Figura 1. Estados de producción de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. en México. Tomada de González, 2003.

Porophyllum ruderale (Jacq.) Cass (Pr) y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC (PI) son dos especies conocidas comúnmente como pápalo y pipicha respectivamente. *Porophyllum* proviene del griego *porus* y *phyllon* que significa hojas con poros y todas las hojas pertenecientes a este género presentan poros por donde desprenden el olor característico de cada una de las plantas. Ambas especies son consideradas quelites, del náhuatl “quiltitl” que significa planta comestible debido a que lo que se consume son las hojas y tallos. Dentro de los quelites se encuentran plantas herbáceas, arbustivas y arbóreas (Basurto *et al.*, 1998, Castro *et al.*, 2011). Los quelites se consumen en México desde la época prehispánica, mostrando un uso variable pero el principal es el uso comestible (Balcázar *et al.*, 2020). Las dos especies presentan un fuerte olor y sabor agradable, además de que contienen nutrimentos inorgánicos (Ca, K, Mg, Mn, Zn, P y A) y minerales (Estrada *et al.*, 2016). Tienen una amplia variedad de proteínas, fibra dietética, compuestos fenólicos, entre otros, por lo que tienen alta capacidad antioxidante (Santiago *et al.*, 2019). Se encuentran entre las verduras más consumidas, particularmente en el centro de México. Las hojas se pueden consumir frescas o secas, utilizándolas en la cocina tradicional mexicana en diferentes platillos. (Vázquez *et al.*, 2021).

P. ruderale (Jacq.) Cass. y *P. linaria* (Cav.) DC. son plantas anuales, herbáceas, arbustivas o trepadoras que crecen en sitios de vegetación perturbada, en selva

baja caducifolia, matorrales espinosos y bosques de pino-encino, sin embargo, también se encuentran en zonas de selva alta perennifolia, selva mediana subperenifolia y selva subcaducifolia (Castro *et al.*, 2011). El pápalo se llama así debido a que su nombre proviene del náhuatl papálotl que significa “mariposa” y puede llegar a medir entre 10 y 15 cm de altura, sus hojas son de color verde y ovaladas, con el margen ondulado, glándulas traslúcidas y miden alrededor de 5 cm, los tallos tiernos en ocasiones pueden tener inflorescencias inmaduras con flores pequeñas agrupadas que liberan un fruto seco en forma de aquenio y contiene una sola semilla. Crece en climas cálidos, semihúmedos y húmedos, en suelos francos a arcillosos y con materia orgánica. La temperatura óptima para su germinación va desde los 25°C a los 30°C, requiere sol directo o sombra ligera (SIAP, 2019). Se distribuye en tierra caliente y parte de la zona de montaña, entre los 1200 y 1800 m de altitud. Su ciclo de vida inicia cuando germinan las semillas con las primeras lluvias, la etapa de floración puede aparecer entre los meses de agosto y septiembre y los frutos se forman en el mes de septiembre, pero alcanzan su maduración entre octubre y noviembre (Cabrera *et al.*, 1998) (Figuras 2 y 3).

Al igual que el pápalo el nombre de pipicha proviene del náhuatl pipitza que significa “soplar repentinamente”. Otro nombre científico por el cual se le puede llegar a conocer a la pipicha es *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. Puede llegar a medir entre 25 y 50 cm de altura, sus hojas son lanceoladas y angostas que pueden medir 4.5 cm, cuando están frescas presentan un color verde, pero al madurar tienen un color café y sus flores son color morado. Sus hojas tienen glándulas que producen aceites aromáticos. Al igual que el pápalo sus semillas son en forma de aquenio. Puede crecer en diferentes climas, pero los más favorables son los climas secos, semisecos y templados, el suelo tiene que ser arenoso, pedregoso y alcalino (SIAP, 2019). Crece cuando hay lluvias. Florece entre los meses de agosto y octubre y su fructificación es en septiembre y principios de diciembre (Cabrera *et al.*, 1998) (Figuras 4 y 5).



Figura 3. Hoja de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass



Figura 5. *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.



Figura 2. *Porophyllum ruderale* (Jacq.) tomado de Cabrera *et al.*, 1998



Figura 4. *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. tomado de Cabrera *et al.*, 1998

Algunas especies del género *Porophyllum* se han utilizado en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas patologías tanto infecciosas como inflamatorias (Castro *et al.*, 2011); por ejemplo, la enfermedad de leishmaniasis, la cual es producida por un protozoario del género *Leishmania sp*, que se ha tratado con extracto de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass., también se ha tratado la epilepsia y edemas (Teru *et al.*, 2011, Souza *et al.*, 2003). Se ha visto que *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. tiene también alta actividad antifúngica por lo que puede funcionar como un potente fungicida (Juárez *et al.*, 2015). Las hojas de pápalo se han utilizado como diaforéticas y sedantes debido a sus compuestos volátiles (Conde *et al.*, 2017). Las hojas de la pipicha son utilizadas para tratar procesos antiinflamatorios, enfermedades degenerativas y tiene altas propiedades antioxidantes (Segura *et al.*, 2019).

1.2 Clasificación taxonómica de Pápalo (*Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.)

Tabla 1. *Porophyllum ruderale* (Castro, et al., 2011)

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliposida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Tribu	Tageteae
Subtribu	Pectidinae
Género	<i>Porophyllum</i> Guett.
Especie	<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass
Variedad	<i>macrocephalum</i>

1.3 Clasificación taxonómica de Pipicha (*Porophyllum linaria* (Cav.) DC.)

Tabla 2. *Porophyllum linaria* (Zorrilla, 2021)

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliposida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Tribu	Tageteae
Subtribu	Pectidinae
Género	<i>Porophyllum</i> Guett.
Especie	<i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.

El uso del pápalo y la pipicha se ha diversificado desde la industria de la perfumería y la elaboración de pesticidas (Estrada *et al.*, 2016) y se ha extendido principalmente a la medicina tradicional, como se ha mencionado debido a sus actividades: antiinflamatoria, antifúngica y antiespasmódica. Estas propiedades se deben a la presencia de compuestos activos como: limoneno, β -felandreno, sabineno, transpineno, β -mirceno principalmente. Cabe mencionar que la mayoría de los estudios revisados reportan la presencia de limoneno como un compuesto constante para ambas especies, sin embargo, los monoterpenos y compuestos fenólicos son un componente principal del pápalo (Raggi *et al.*, 2014, Jiménez *et al.*, 2012, Rodríguez *et al.*, 2019). El tiofeno es un compuesto de cadena insaturada presente en el pápalo al que se le han atribuido las propiedades pesticidas (Conde *et al.*, 2014). Estos metabolitos que se encuentran en ambas especies pueden darle protección contra depredadores o competidores y debido a esto tienen una gran capacidad de dispersión (Villaseñor, 2018).

1.4 Metabolitos secundarios

Desde hace muchos a las plantas se les ha atribuido propiedades medicinales, sin embargo, se desconocían los principios activos que contenían por lo que se empezó a realizar investigación para saber cómo actuaban, esto dio origen a una rama de la ciencia que es la Fitoquímica; la cual se encarga del estudio de las sustancias que no son esenciales para la supervivencia de los organismos, es decir de los metabolitos secundarios (Verde *et al.*, 2016).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, las plantas contienen sustancias que son utilizadas para propósitos terapéuticos y que pueden funcionar como precursores de nuevos fármacos. Estas sustancias son los metabolitos secundarios, pequeñas moléculas que funcionan como intermediarios y son producto del metabolismo (Jain *et al.*, 2019). Los metabolitos secundarios son parte de los componentes de las plantas que les confiere diversas propiedades, una de ellas es la medicinal, además también le da protección las plantas y defensa de patógenos o herbívoros. No sólo se han usado en el área medicinal, también se han usado en la industria cosmética, perfumería o como saborizante (Biswas *et al.*,

2019). Las plantas sintetizan enzimas que degradan la pared celular de los microorganismos o tienen la capacidad de inactivar tóxicos microbianos. Los metabolitos secundarios son moléculas de bajo peso molecular que participan en la adaptación de las plantas a su ambiente y una de las funciones más importantes es la defensa de las plantas. Durante su síntesis se activan diversos genes de proteínas que participan en la fortificación de la pared celular, como la formación de calosa y lignina, también en la producción de inhibidores de proteasas y de enzimas líticas como la quitinasas y glucanasas, y presentan una muy importante actividad antimicrobiana y/o antioxidante (Sepúlveda *et al.*, 2003).

Los metabolitos secundarios se clasifican de acuerdo con sus rutas biosintéticas y en cuatro grandes familias de moléculas: flavonoides, terpenos, alcaloides y glicósidos (Chiocchio *et al.*, 2021) (Figura 6).

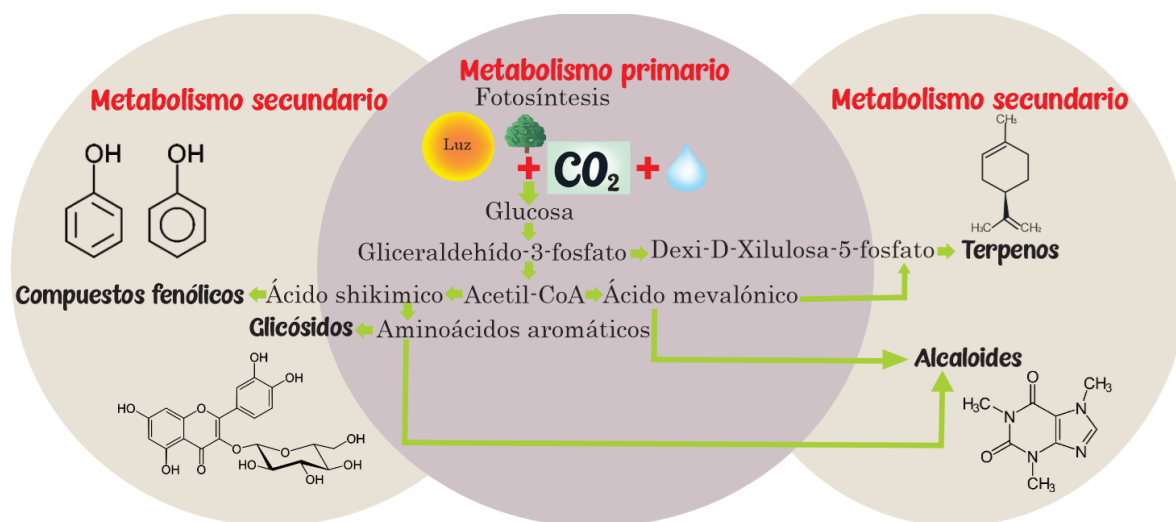


Figura 6. Metabolitos secundarios encontrados en plantas. Modificado de Ávalos *et al.*, 2009

Los fenoles son parte de la familia de los flavonoides, son compuestos que están presentes en las plantas y que se asocian a un potencial antimicrobiano. Algunos son de bajo peso molecular, son volátiles y fáciles de obtener como por ejemplo el timol, carvacrol, guayacol y eugenol. Tienen propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, fitotóxicas y citotóxicas. En su estructura contienen un grupo fenol y un anillo aromático unido al menos a un grupo funcional hidroxilo (Jordá, 2015). Son biosintetizados por dos vías, la ruta del ácido shikímico, que es el responsable de la biosíntesis de la mayoría de los fenoles en las plantas. La vía

del ácido malónico que es poco empleada por las plantas. Entre los compuestos principales se pueden encontrar los taninos y flavonoides (Stasiuk *et al.*, 2010). Los taninos son sustancias complejas, hidrosolubles, no nitrogenadas de origen vegetal, bajo peso molecular. Se encuentran en las raíces, corteza y en menor proporción en las hojas de plantas. Los flavonoides son pigmentos amarillos derivados de la fenil-benzeno y pirona o fenil cromona. Existen seis clases principales: chalcona, flavonas, flavonoles, antiocianinas y taninos condensados. Intervienen en la coloración de las plantas, flores, frutos y hojas, por ello participan en la polinización atrayendo insectos, una característica muy importante es que son susceptibles a la oxidación por lo que actúan como antioxidantes naturales, que se absorben a través de la piel. (Ahmaruzzaman, 2008).

La cumarina es el principal metabolito secundario encontrado en plantas bacterias y hongos. Las cumarinas están compuestas por un anillo de benceno fusionado en un anillo de pirona, y son capaces de realizar interacciones con varios objetivos biológicos. Son reconocidas por tener actividades antioxidantes, anticoagulantes, anticancerígenas, antivirales, anti-colinesterasa y también antileishmania. Se encuentran principalmente en familias Rutaceae, Apiaceae, Asteraceae. Presentan actividad antimicrobiana debido a que pueden unirse a la subunidad B de la ADN girasa en las bacterias, por lo que inhiben el super enrollamiento del ADN al bloquear la actividad de la ADNasa (Arrache *et al.*, 2020). Presentan una actividad antioxidante porque inhiben lipooxigenasas que están involucradas en el estrés oxidativo. La esculina es un derivado de las cumarinas que se ha visto que tiene potencial antiinflamatorio (Kasaian *et al.*, 2018).

Los terpenos o también conocidos como terpenoides o isoprenos son metabolitos que están asociados como el desarrollo en la interacción de la planta con su medio ambiente. Son hidrocarburos clasificados por el número de isoprenos con el más común comenzando con mono, sesqui y diterpenos, precursores de dimetil difosfato (DMAPP) y su isómero isopentinil difosfato (IPP) (Tetali, 2019). La ruta por la cual se derivan es la ruta del ácido mevalónico. Constituyen los aceites esenciales de las plantas, tienen una alta concentración en las hojas. Juegan un papel esencial en

las funciones ecológicas en respuestas a factores bióticos y abióticos y son clasificados como productos del metabolismo secundario, pueden funcionar como atractivos de polinización, insecticidas, compuestos antibacterianos, antioxidantes, moléculas de termotolerancia y fotoprotección. Los terpenos tienen propiedades antiinflamatorias, antiagregatorias, efectos anticoagulantes, sedativos y analgésicos (Harmange *et al.*, 2020).

Los serquiterpenos son productos naturales encontrados en algunas plantas, principalmente en las raíces. Este tipo de terpeno tiene propiedades antiinflamatorias, antígenotóxica, citotóxicas, quimio protectora, antibacteriana, inhibe a la acetilcolinesterasa, antileishmania y antiviral (Kasaian *et al.*, 2017).

Los alcaloides son metabolitos que contienen uno o más átomos nitrogenados dentro de anillos heterocíclicos que tienen actividad toxicológica, farmacológica, nutricional y cosmética y que se encuentran ampliamente distribuidos en las hojas, flores, semillas y raíces, sin embargo, su presencia y la distribución depende de la fase del ciclo de vida de la planta (Chiocchio *et al.*, 2021). Pueden inhibir la síntesis de ácidos nucleicos, también puede provocar la ruptura de membrana en bacterias gram negativas y despolariza las membranas de las bacterias gram positivas, afecta la síntesis de genes que participan en la virulencia de algunos microorganismos (Othman *et al.*, 2019).

Los glicósidos son metabolitos vegetales que se pueden clasificar en saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos (Ávalos *et al.*, 2009). El nombre de saponina es derivado de la palabra latina sapo que significa capacidad de generar espuma similar al jabón que tiene propiedades anfífilas, contiene una aglicona derivada de isoprenoide (una sapogenina) unida a una o más cadenas de azúcar por un enlace éter o éster. Las saponinas están formadas por esqueletos de sapogenina que se pueden dividir en dos grupos principales: saponinas triterpenoides y saponinas esteroides, esta división se debe a que este esqueleto puede sufrir glicosilaciones por las glicosiltransferasas y transglucosidasas (Juang *et al.*, 2020). En la naturaleza se pueden encontrar en las plantas y animales marinos, están implicadas en la defensa del huésped contra patógenos y herbívoros

(Güçlü *et al.*, 2007). Los glicósidos cianogénicos son compuestos nitrogenados que contienen una aglicona tipo α -hidroxinitrilo y un azúcar, principalmente D-glucosa, producen ácido cianhídrico por la hidrólisis de los compuestos cianogénicos de algunos vegetales y tienen un papel protector en la defensa de algunas especies de plantas frente a diferentes herbívoros (Arrázola *et al.*, 2013).

1.5 Especies bacterianas analizadas

Staphylococcus aureus es una bacteria descubierta en 1880 por el cirujano Alexander Ogston, él le dio el nombre de *Staphylococcus* ya que proviene del griego “Staphylo” que significa “racimo de uvas” y posteriormente otro cirujano Anton J. Rosenbach que descubrió dos cepas *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, antes llamado *albus* “*aureus*” del latín “aurum” que significa color oro y “*albus*” color blanco (Pasachova *et al.*, 2019). Las colonias pueden crecer en medio de cultivo suplementado con un hasta 10% de sal. El color de las colonias suele ser dorado o amarillo pueden crecer en condiciones aeróbicas o anaeróbicas ya que son anaerobios facultativos, la temperatura oscila entre 18 y 40°C. Son catalasa positiva, coagulasa positiva y fermentación de manitol positiva por lo que su medio selectivo es Agar sal manitol (Taylor *et al.*, 2022). Son cocos gram positivos, tienen un diámetro de 0.5 a 1.5 μ m, se pueden encontrar en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Son bacterias inmóviles, no esporuladas y no tienen cápsula (Cervantes *et al.*, 2014). Crecen entre 18 y 24 horas, formando colonias lisas, elevadas, brillantes y de bordes enteros, presentan una consistencia cremosa y pigmentación que va de amarillo a dorado debido a la producción de carotenoides, las cepas producen β -hemólisis cuando se cultivan en agar sangre. Crecen bien en agar sangre, chocolate, agar sal manitol o medio de Chapman (Pasachova *et al.*, 2019). Se han reportado 35 especies de este género que afectan tanto a humanos como a los animales, se pueden transmitir de una especie a otra y son de las principales bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por los alimentos (Zendejas *et al.*, 2014).

Staphylococcus aureus es un patógeno en humanos que produce infecciones tanto en la comunidad como a nivel hospitalario. En la población produce infecciones

agudas, piogénicas y superficiales y con menor frecuencia osteomielitis, neumonía y endocarditis aguda, además de que produce toxinas que provocan síndrome del shock tóxico, intoxicación alimentaria y síndrome de piel escaldada (Cervantes *et al.*, 2014).

Enterococcus faecalis perteneciente al género *Enterococcus*, es un patógeno oportunista que se ha descrito en los años ochenta; actualmente existen 38 especies reportadas (Porte *et al.*, 2007). Son cocos gram positivos, se encuentran en cadenas o parejas cortas, no tienen cápsula, no forman esporas, son anaerobios facultativos, quimiorganotrofos, con metabolismo fermentativo, catalasa negativa, son células esféricas u ovoides con un tamaño de 0.6 a 2.0 x 0.6 a 2.5 µm. Tienen la capacidad de hidrolizar la esculina, crece en presencia de NaCl al 6.5%, a temperaturas entre 10°C y 45°C y un pH de 9.6%, también crecen en presencia de bilis al 40% y sobreviven 10min a 69°C e hidroliza la L-pirrolidonil β-naftil-amida (Acosta, 2005). En un medio a pH 7,0 la mayoría de *Enterococcus* reduce el tetrazolio a fomazán, por lo que las colonias son rojas brillosas que pueden ser fácilmente identificadas, a un pH 6,2 o cercano a 6,0 son colonias claras con un centro rojo o colonias ligeramente rosadas (Ortega, 2010). Crecen bien en los medios de cultivo tradicionales, agar sangre al 5%, base de tripticasa soya, en agar sangre las colonias se ven pequeñas y lisas de borde uniforme de color crema o blanco y agar de telurito se observan colonias negras (Casillas *et al.*, 2022). Son bacterias de la microbiota gastrointestinal del ser humano y animales. Pueden causar enfermedades dentro y fuera de sitios hospitalarios (Arredondo *et al.*, 2018). Coloniza el intestino delgado en los humanos y frecuentemente es usado en clínicas para la enseñanza de la identificación bacteriana (Quiloan *et al.*, 2012). Pueden afectar el tracto urinario y respiratorio, afecta la piel y causa bacteriemia, endocarditis, meningitis, infecciones pélvicas e infecciones nosocomiales. Sobrevive a superficies ambientales por periodos prolongados, además se adaptan a los niveles de sales biliares y detergentes como el dodecil sulfato de sodio y se han encontrado en agua, suelo, animales domésticos, aves e insectos (Díaz *et al.*, 2010, Evans *et al.*, 2002).

Klebsiella pneumoniae es un bacilo gram negativo, fermentador de lactosa, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, es inmóvil, fermenta lactosa, anaerobio facultativo, es una de las bacterias más importante del género *Klebsiella* ya que tiene un papel importante en infecciones oportunistas (Suárez *et al.*, 2015). Tiene una cápsula que actúa como el factor determinante de virulencia, expresa 2 tipos de antígenos en su superficie celular, el primer antígeno es S, es un componente del lipopolisacárido (LPS), existen 9 variedades y el segundo antígeno es el K, un polisacárido capsular con más de 80 variedades, que se compone de polisacáridos de 4 a 6 azúcares y ácidos urónicos con carga negativa, esta cápsula la protege de la fagocitosis; se clasifican en 77 serotipos (Echeverri *et al.*, 2010, Tártara, 2013, López *et al.*, 2010). Puede crecer en medio MacConkey, agar sangre, agar chocolate y agar nutritivo, en estos tipos de medios presentan colonias grandes, convexas y de color rosa intenso (Expósito *et al.*, 2017). En el humano se encuentra en la mucosa de la nasofaringe y tracto gastrointestinal, también causa infecciones en el tracto urinario y biliar, neumonía, peritonitis, meningitis, bacteriemia, enterocolitis, conjuntivitis, absceso renal y endocarditis (Hoyos *et al.*, 2007). En el ambiente se encuentran en agua, suelo y plantas, también en animales como caballos y cerdos.

Escherichia coli fue aislada por primera vez por el pediatra Escherich en 1885. Es un bacilo gram negativo, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, anaerobio facultativo, no esporula, produce indol a partir de triptófano, no utiliza citrato como fuente de carbono, fermenta glucosa y lactosa con producción de gas (Canet, 2016). Es una bacteria mesófila, su óptimo desarrollo se encuentra entre los 35- 43°C, sin embargo, es sensible a temperaturas superiores a 70°C y su crecimiento se detiene a pH inferiores a 3.8, o superiores a 9.5. Coloniza el intestino del hombre, puede ser considerada una bacteria de la flora normal, pero pueden haber cepas que son patógenas y causar daño como la diarrea que se caracteriza por ser acuosa, sin sangre, con dolor abdominal, náuseas, vomito y fiebre. (Rodríguez *et al.*, 2002). Existen diferentes serotipos, 176 antígenos somáticos (O), 112 flagelares (H) y 60 capsulares (K), los serotipos se asocian a diferentes cuadros clínicos (Chandana, 2015). Hay diferentes cepas, *E. coli* enterotoxigénica, enteropatogénica,

enterohemorrágica, enteroagregativa y enteroinvasiva (Canata *et al.*, 2016). Pueden crecer en agar EMB (eosina y azul de metileno) en donde las colonias tienen un diámetro de 2 a 4 mm, un centro grande de color oscuro y tienen un brillo verde metálico; en agar MacConkey las colonias son rosadas con halo turbio, en cuanto al tamaño son similares a EMB, en agar sangre forma colonias circulares de tamaño mediano a grande de 2mm a 4mm, de color blanco, superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa (Canet, 2016).

1.6 Clasificación de las especies bacterianas de acuerdo con su taxonomía

Tabla 3. Bacterias en estudio

Orden	Género	Especie	Gram
Bacillales	<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i>	+
Lactobacillales	<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i>	+
Enterobacteriales	<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i>	-
	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	-

1.7 Resistencia antimicrobiana a antibióticos

Uno de los principales problemas de las enfermedades infecciosas en México y en el mundo es la resistencia a antibióticos, las bacterias gram negativas como *Pseudomonas* sp. y *Acinobacter* sp. resistentes a carbapenem, *Escherichia* sp. y *Klebsiella* sp. resistentes a β -lactámicos, *Enterobacter* sp y *Serratia* sp. *Citrobacter* sp. resistentes a β -lactamasas cromosómicas inducibles; el problema de resistencia ha ido avanzando conforme van pasando los años (Zampini *et al.*, 2007).

Staphylococcus aureus resistente a la meticilina es uno de los principales microorganismos causantes de enfermedades hospitalarias de la comunidad, de manera importante afecta a niños y jóvenes. Entre los antibióticos a los que también es resistente se encuentran la eritromicina, azitromicina, ciprofloxacino, gentamicina, amikacina, cotrimoxazol, tetraciclina y cloranfenicol (Martínez *et al.*, 2017). Para evadir la respuesta inmunitaria producen una cápsula antifagocítica, secuestro de anticuerpos del huésped o enmascara a antígenos por la proteína A,

también forma biopelículas, presentan supervivencia intracelular y el bloqueo de la quimiotaxis de los leucocitos (Taylor *et al.*, 2022). *S. aureus* tiene gran capacidad para causar infecciones potencialmente mortales y se puede adaptar a diferentes condiciones ambientales por lo que es la principal causa general de infecciones nosocomiales. Sin embargo, conforme pasa el tiempo esta bacteria está siendo más resistente a una mayor cantidad de agentes antimicrobianos incluyendo a los nuevos antibióticos porque han desarrollado mecanismos eficientes para neutralizarlos (Lowy, 2003).

Enterococcus faecalis es el causante de infecciones nosocomiales, es resistente a diferentes antibióticos como penicilina o glucopéptidos como los aminoglucósidos, ampicilina, vancomicina, teicoplanina, cefalosporina, meropenem, ertapenem, penicilinas, clotrimoxazol, y clindamicina (Daza 1998, Díaz *et al.*, 2010). El género *Enterococcus* presenta una sensibilidad moderada a las penicilinas y es resistente a las cefalosporinas y trimetoprim/sulfametoxazol, esto se debe a la adquisición de genes de resistencia mediante plásmidos o en transposones o por mutaciones (Cercenado, 2011).

Klebsiella pneumoniae es una bacteria que a lo largo de los años ha ido generando resistencia antimicrobiana a diferentes antibióticos como los aminoglucósidos, cefalosporinas de tercera generación, a las quinolonas, ampicilinas, cefazolina, ceftazidima, ceftriaxona, cefepime, imipenem, meropenem, amikacina, gentamicina, tobramicina, levofloxacina y ciprofloxacina (Suárez *et al.*, 2015). Esta bacteria es una enterobacteria productora de carbapenemasas y es resistente a casi todos los agentes antimicrobianos disponibles por lo que han causado altas tasas de morbimortalidad (Tártara, 2013). Su principal mecanismo de resistencia es la producción de betalactamasas que rompen el enlace amida del núcleo beta lactámico inactivando al antibiótico antes de generar un efecto, además tiene diferentes mecanismos de diseminación multifactoriales como lo es la mutación y la transferencia horizontal de nuevos genes, capaces de causar multiresistencia (Merchán *et al.*, 2021).

Escherichia coli causa diarrea mediante la producción de factores de virulencia codificados mediante las diferentes cepas. Como muchas bacterias esta ha presentado resistencia a antibióticos como fosfomicina, nitrofurantoína, piperacilina tazobactam, cefotaxima, gentamicina, amoxicilina-clavulánico, tobramicina, ciprofloxacino, cotrimoxazol (Beltrán *et al.*, 2020). A partir de los años noventa se vio una alta resistencia a las quinolonas, se encontró entre el 10 y 30%, y el antibiótico con menor actividad fue amoxicilina, y esto se debe a la hidrólisis por la presencia de enzimas betalactamasas (Mosquito *et al.*, 2011).

1.8 Mecanismos de resistencia bacteriana

Las bacterias son organismos procariotas que desarrollan diversos mecanismos para poder sobrevivir ante cualquier situación que se presente, como es el caso de la resistencia a antibióticos, que se define como la capacidad de un microorganismo para sobrevivir en presencia de un compuesto tóxico (antibiótico o antiséptico). Permitiendo que las bacterias se multipliquen en presencia del fármaco (Troncoso *et al.*, 2017).

La resistencia a antibióticos es un problema de salud mundial, la Organización Mundial de la Salud estima que la resistencia bacteriana ocasionará 10 millones de muertes por año para el 2050 y una reducción de 2 y 5% de producto interno bruto en algunos países (Giono *et al.*, 2020).

Las bacterias evolucionan y se adaptan al medio ambiente, desarrollando mecanismos de resistencia a antibióticos como es la producción de enzimas, cambios en la permeabilidad bacteriana, el uso de bombas de expulsión y modificación de proteínas que alteran la unión del antibiótico por otras enzimas, cambiando su conformación y así bloqueando la función del antibiótico (Peñaloza *et al.*, 2021).

Dentro de los mecanismos de resistencia también se encuentra la formación de biopelículas, que son agregaciones estructuradas de células bacterianas en una matriz extracelular conformada por macromoléculas que inicia con la adherencia de bacterias planctónicas a una superficie, con la consiguiente formación de colonias

unidas por las fuerzas débiles de Van der Waals, que proliferan secretando una matriz extracelular compuesta de polisacáridos, ácidos nucleicos y proteínas, para formar una barrera que evita que sean reconocidas por el sistema inmune del hospedero (Troncoso *et al.*, 2017).

Otro mecanismo de resistencia es la inactivación del antibiótico por enzimas como betalactamasas que pueden inhibir la síntesis de la pared celular (Troncoso *et al.*, 2017). La bacteria produce estas proteínas que inactivan al antibiótico, por ejemplo, las betalactamasas que hidrolizan la unión peptídica endocíclica del anillo beta lactámico, además hay expresión de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). La diana de los β -lactámicos es la proteína de unión a penicilina conocida por sus siglas en inglés como PBP, funciona como transpeptidasa, que participa en el entrecruzamiento de las hebras de peptidoglicano, en específico entre las cadenas laterales que se unen al ácido N-acetilmurámico y le da la posibilidad a la bacteria de resistir a la lisis osmótica (Aguayo *et al.*, 2018). Este mecanismo de resistencia se debe al gen *blaZ* que codifica a la β -lactamasa, la proteína *BlaI*, proteína de unión a ADN, se une a la región del operón *Lac*, reprimiendo la transcripción de *blaI* y *blaZ* y así inactivando a la penicilina. Las proteínas AmpC son serin betalactamasas que están presentes en enterobacterias y en bacilos gram negativos no fermentadores y que son capaces de resistir al ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. Las carbapenemasas también pertenecen a la familia de las betalactamasas y son resistentes a los antibióticos carbapenémicos y en enterobacterias hidrolizan a las penicilinas y cefalosporinas (Gastelo *et al.*, 2018).

Las bombas de e-flujo son proteínas que expulsan compuestos tóxicos para la bacteria como metabolitos, detergentes, solventes orgánicos y antibióticos que utilizan la hidrólisis de ATP o un mecanismo de contratransporte iónico como sustrato de energía (Moreno, 2013). Se dividen en dos grupos, el primero es el que utiliza la energía del ATP y expulsión por hidrólisis y el otro grupo utiliza la fuerza móvil de protones y por ende hay un flujo antiporte protón/droga (Troncoso *et al.*, 2017).

La modificación del sitio activo es otro mecanismo de resistencia, el cual tiene la capacidad de generar sustancias metabólicas que compiten con el sitio activo del fármaco por similitud molecular. También se puede dar la alteración enzimática del sitio objetivo del fármaco, reduciendo la afinidad del antibiótico al sitio blanco (Troncoso *et al.*, 2017).

A nivel intracelular existen elementos genéticos móviles, como los plásmidos, transposones e integrones, que incorporan genes sin promotor para la resistencia a antibióticos, cambios en el ADN, la adaptación, protección contra fagos y la capacidad de sobrevivencia (Garza *et al.*, 2009).

1.9 Nanopartículas

Las nanopartículas son estudiadas por la nanotecnología, el cual es un término que introdujo el premio Nobel Richard Feynman en 1959, en donde descubrió este nuevo campo y que actualmente en este siglo es una de las tecnologías más prometedoras ya que es capaz de observar, manipular, ensamblar, controlar y manufacturar la materia a una escala nanométrica.

Las nanopartículas son estructuras con tamaños inferiores a 100 nanómetros, que pueden ser sintetizadas a partir de diferentes materiales, incluyendo metales (Gómez, 2018). Se pueden clasificar de acuerdo con su estructura como unidimensionales, bidimensionales o tridimensionales. También pueden tener diferentes formas de acuerdo con su componente principal, entre las más comunes se encuentran las esféricas como los fullerenos, nanotubos, nanocables, entre otras. Las nanopartículas están constituidas de lípidos, macromoléculas, biopolímeros o hidrogeles (Thomas *et al.*, 2015).

Son útiles debido a sus características únicas, como la relación entre superficie y masa, la cual es mucho mayor que la de otras partículas, aunado a sus propiedades cuánticas y su habilidad para absorber y llevar otros compuestos (Jong *et al.*, 2008). Debido a estas propiedades, su campo de aplicación es bastante amplio como en la terapia para combatir el cáncer, en la administración dirigida de fármacos, producción de biomedicinas, tratamiento de aguas residuales, industria cosmética,

electrónica, alimentaria, aeronáutica y como biosensores, por lo que se han investigado más durante la última década (Kumaret al., 2016).

Para su síntesis existen dos métodos, los top-down, descendentes y los bottom-up, ascendentes (Bayda et al., 2020). Las técnicas top-down consisten en la división del material macroscópico hasta llegar a una escala nanométrica. En esta técnica se utilizan métodos físicos como lo es la molienda o el desgaste, métodos químicos y la volatilización de un sólido seguido por la condensación de los componentes volatilizados hasta la obtención del tamaño deseado. La segunda técnica es la bottom-up que consiste en la elaboración de nanopartículas con la capacidad de autoensamblarse a través de la condensación de átomos en una fase gaseosa o en solución por medio de un cambio en el pH, la concentración de un soluto en específico o la aplicación de un campo eléctrico (Gómez, 2018) (Figura 7).

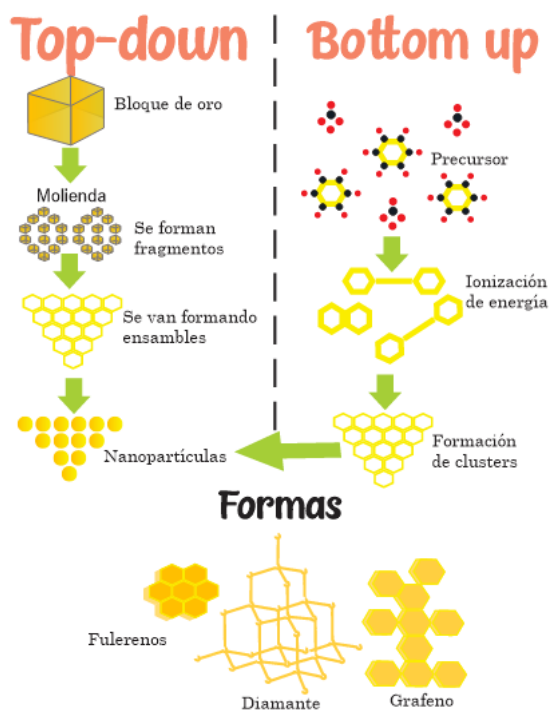


Figura 7. Técnicas de síntesis de nanopartículas. Modificada de Gómez, 2018

Existen varios tipos de nanopartículas de acuerdo con su composición como lo son las de óxido de hierro, oro, plata, por nombrar algunas. Las nanopartículas de óxido de hierro tienen propiedad superparamagnética, es decir, que, en presencia de un campo magnético externo, estas partículas tienden a aglomerarse, por lo que se

pueden dirigir a un órgano o tejido determinado (Gregorio *et al.*, 2012). Por ejemplo, debido a esta propiedad se pueden unir a cualquier tipo de célula, como aquellas que están recubiertas con antígenos dirigidos a células cancerosas o proteínas, posteriormente a través del campo magnético se recuperan y las moléculas asociadas pueden ser analizadas, por lo cual tienen aplicaciones en la creación de fármacos (Thomas *et al.*, 2015).

Las nanopartículas de oro (AuNPs) pueden usarse como vehículos de administración de fármacos o genes porque pueden unirse fácilmente con ligandos como agentes dirigidos y péptidos que penetran en las células (Mattos *et al.*, 2011). La permeabilidad y retención es una propiedad exclusiva de este tipo de nanopartículas para acumularse e interactuar con células tumorales, además que se ha demostrado que son más seguras y menos tóxicas para la administración de fármacos (Alaqad *et al.*, 2016). El tamaño de estas partículas es de 1 a 100nm y se pueden encontrar en nanoesferas, nanobarras y nanoconchas. Sus precursores metálicos son níquel, cobalto, cloruro de rodio, cloruro de paladio, entre otros (Corzo, 2012). Además, son bastante útiles en el área de la biomedicina y biotecnología debido a su gran área de superficie y alta conductividad electrónica (Paz *et al.*, 2014). Se ha demostrado que las nanopartículas de oro tienen altas propiedades antimicrobianas (Shah *et al.*, 2014).

Las nanopartículas de plata (AgNPs) tienen un uso potencial en catálisis, fabricación de textiles y microelectrónica. Las principales aplicaciones biológicas incluyen terapéutica, detección y diagnóstico biomolecular, administración de fármacos, producción de alimentos, agricultura y tratamiento de desechos. Estas nanopartículas se encuentran entre los agentes antibacterianos más potentes (Mattos *et al.*, 2011). Además, los constituyentes de las plantas, como: los terpenoides, los monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, polifenoles y alcaloides hacen más eficiente la síntesis de estas nanopartículas (Rehman *et al.*, 2015). Estas nanopartículas sintetizadas no dañan el medio ambiente y se pueden producir a gran escala (Ocsoy *et al.*, 2018). Sin embargo, son altamente tóxicas ya para los organismos ya que se ha demostrado en diferentes modelos de estudio

que afectan las vías respiratorias, causan estornudos frecuentes, flujo nasal, dolor de garganta, además daños severos al corazón incrementan el pulso cardíaco, disminución en la oxigenación capilar (Coutiño *et al.*, 2017). En la piel puede causar argiria y los queratinocitos epidérmicos desencadenan una respuesta inflamatoria, pueden penetrar el estrato córneo y dañarlo (Ávalos *et al.*, 2013).

Antecedentes

Rondón *et al.*, 2008 trabajaron con el aceite esencial de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass, reportando su composición química de las partes aéreas del pápalo y su actividad antibacteriana de amplio espectro contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococos faecalis*) y bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*). En cuanto a la composición química, sus resultados reportan que sus componentes mayoritarios fueron una mezcla de limoneno y β - felandreno (50.3%), sabineno (20.2%), 1-undeceno (4.7%), 4-terpineol (3.8%) y α -pineno (2.9%).

Se sabe que el extracto crudo de las partes aéreas de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass tiene actividad contra *Leishmania amazonensis*. Los componentes 5'-metil-2,2':5',2' tertiofeno y compuesto y 5'-metil-[5-4(4-acetoxi-1-bitinil)]-2,2'-bitiofeno tienen actividad antileishmania en las dos formas del parásito: promastigote y amastigote (Takahashi *et al.*, 2011).

Una especie vegetal que es familia de *Porophyllum ruderale* y *Porophyllum linaria* es *Porophyllum lanceolatum* se ha demostrado que tiene actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas como: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y Gram negativas: *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Mattana *et al.*, 2012).

Porophyllum ruderale y *Solidago chilensis* tienen actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* a una concentración de 10 μ l además tienen la presencia de taninos, antraquinonas, saponinas y flavonoides (Cruz *et al.*, 2013).

El aceite esencial de *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. tiene actividad fungicida debido al ácido linoleico y al fitol como sus principales componentes. La efectividad del aceite esencial fue probada en hongos aislados a partir de granos de trigo almacenados. No presenta toxicidad para los humanos (Juárez *et al.*, 2015).

El extracto *Porophyllum obscurum* podría funcionar como alternativa para el tratamiento de la candidiasis orofaríngea. Los compuestos que tiene 2,2':5'2" tertiofeno, 5-(3-buten-1-inil) -2,2'-bitiofeno, 5- (4-acetoxi-1-butenil) -2,2'- bitiofeno y 5- (4-hidroxi-1-butenil) -2,2'- bitiofeno en sus diferentes etapas fenológicas; la etapa de floración posee la mayor cantidad de tiofenos que fueron los responsables de la actividad antifúngica fotosensible (Postigo *et al.*, 2017).

El aceite esencial de las partes aéreas de *Porophyllum linaria* tiene efecto insecticida y repelente sobre el gorgojo del maíz. Dentro sus compuestos tienen β -mirceno (41.94%), D-limoneno (20.29%) y estragol (20.03%). Tiene una toxicidad a una dosis de 800 ppm (Hernández *et al.*, 2019).

Otro trabajo con el aceite esencial de *Porophyllum ruderale*, muestra que en sus componentes presenta monoterpenos (94.69%), hidrocarburos aromáticos (4.39%) y sequiterpenos (0.27%), β -mirceno (35.52%), γ -terpineno (26.37%), β -pineno (21.65%), limoneno (9.26% y 1-undeceno (4.39%). Además, a una concentración de 3.75 mg/ml inhibe el crecimiento de las especies bacterianas *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* y *Candida glabrata* (Kouassi *et al.*, 2020).

El extracto de *Tamarindus indica* L. funciona como agente reductor y estabilizante para la síntesis de nanopartículas de oro, utilizando como agente reductor H₂AuCl₄. El proceso para la síntesis en este caso fue de una hora a temperatura ambiente, lo cual mostró nanopartículas de oro con una longitud de onda de 576nm y un tamaño de 52 +- 5 nm (Correa *et al.*, 2016)

Justificación

El uso de las nanopartículas es de gran interés para el ámbito de la medicina debido a que su escala nano permite transportar eficientemente compuestos a través de membranas biológicas hasta el sitio de acción. Al emplear plantas como apoyo en la acción de medicamentos se ha comprobado que es útil para el tratamiento de diferentes patologías. Varios estudios revelan que el uso de extractos de plantas para la producción de nanopartículas es muy eficiente; sin embargo, no se han hecho estudios sobre la síntesis de nanopartículas a partir del extracto de las especies *P. ruderale* (Jacq.) Cass y *P. linaria* (Cav.) DC.

P. ruderale (Jacq.) Cass y *P. linaria* (Cav.) DC., son especies que tienen un alto potencial debido a sus propiedades medicinales como cicatrizantes, sedantes y antiparasitarios. Sin embargo, hay pocos estudios reportados de la actividad antimicrobiana de *P. ruderale* (Jacq.) Cass y no se han reportado para la especie de *P. linaria* (Cav.) DC., por lo que es conveniente investigar más a fondo en cuanto a dicha actividad antimicrobiana. Por lo anterior en el presente trabajo se evalúa la actividad antimicrobiana de estas dos especies vegetales, y la síntesis de nanopartículas a partir de sus extractos, ya que estas dos plantas tienen alto potencial antimicrobiano además de que este proyecto puede dar paso a futuras investigaciones.

Pregunta de investigación

¿Cómo influyen los extractos acuosos de hojas frescas y secas de *P. ruderale* (Jacq.) Cass y *P. linaria* (Cav.) DC en la inhibición del crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, así como nanopartículas de oro sintetizadas con estos extractos?

Hipótesis

Los extractos acuosos de hojas frescas y secas de *P. ruderale* (Jacq.) Cass y *P. linaria* (Cav.) DC permiten la síntesis de nanopartículas de oro que inhiben el crecimiento de bacterias de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *K. pneumoniae*.

Objetivo general

Evaluar el efecto en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* utilizando los extractos de hojas frescas y secas de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass, *Porophyllum linaria* (Cav.) DC., así como de nanopartículas de oro sintetizadas con estos extractos.

Objetivos particulares

1. Obtener extractos acuosos a partir de las hojas de *P. ruderale* (Jacq.) Cass y *P. linaria* (Cav.) DC.
2. Identificar algunos de los metabolitos secundarios presentes en los extractos de hojas de *P. ruderale* (Jacq.) Cass y *P. linaria* (Cav.) DC., mediante pruebas fitoquímicas.
3. Evaluar la inhibición del crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en presencia de los extractos acuosos.
4. Sintetizar nanopartículas de oro utilizando los extractos acuosos de las hojas de *P. ruderale* (Jacq.) Cass y *P. linaria* (Cav.) DC., como reductores químicos.
5. Evaluar el crecimiento de los microorganismos en presencia de las nanopartículas de oro sintetizadas con los extractos acuosos de *P. ruderale* (Jacq.) Cass y *P. linaria* (Cav.) DC.
6. Evaluar la actividad antioxidante de los extractos de *P. ruderale* (Jacq.) Cass y *P. linaria* (Cav.) DC.
7. Evaluar la actividad antioxidante de las nanopartículas de *P. ruderale* (Jacq.) Cass y *P. linaria* (Cav.) DC.

Material y métodos

6.1 Recolección del material vegetal

El material vegetal fue proveniente de Izúcar de Matamoros. Se utilizaron las hojas de las especies *P. ruderalis* y *P. linaria* y se seleccionaron en base a su aspecto físico como su color, consistencia, frescura y que no presentaran lesiones o daño visual.

6.2 Extracción de los compuestos

6.2.1 Extracción con hojas frescas

Se pesaron 50g de hojas de cada una de las especies vegetales *P. ruderalis* y *P. linaria*, se desinfectaron bajo condiciones de esterilidad en una campana de flujo laminar Lumistell LT-90. Se lavaron con agua corriente y después con agua destilada para eliminar cualquier agente contaminante, se dejaron reposando en una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante 15 minutos, transcurrido ese tiempo se retiró la solución lavando nuevamente con agua destilada estéril y se dejó escurrir durante 20 minutos.

Se preparó una solución hidroalcohólica 1:1 (etanol 96%: agua destilada estéril). Una vez desinfectadas las hojas se colocaron en un mortero estéril con 10 ml de la solución hidroalcohólica, se fue macerando hasta la incorporación del material vegetal con la solución. Se filtró el extracto con papel Whatman (25µm), se colocó en un frasco ámbar y se dejó reposar por 3 días a 4°C. Posteriormente el extracto se destiló en un rotavapor DLAB RE-100-PRO a 50°C en baño maría a 100rpm por 2 horas, hasta la separación del disolvente etanólico del extracto. Ya destilado se esterilizó por filtración de membrana (0.22 µm). Finalmente, el extracto final se conservó en frasco ámbar a 4°C hasta su utilización (Figura 8).

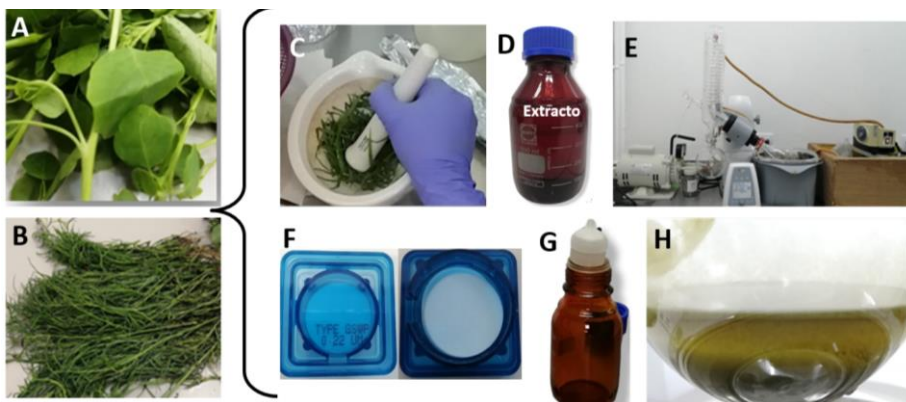


Figura 8. Obtención de compuestos. A) *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass B) *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. C) Macerado con la solución hidroalcohólica D) Extracto sin destilar E) Destilado con rotavapor F) Membrana de 0.22 μ m G) Esterilización por filtración H) Extracto final

6.2.2 Extracción con hojas secas

El procedimiento de desinfección se realizó para el extracto con hojas secas de acuerdo con el procedimiento antes ya mencionado. Posteriormente, las hojas fueron secadas en un gabinete de secado GENLAB IWC425 a 50°C durante 3 días. Transcurrido ese tiempo, cada una de las plantas se pesaron para obtener el peso seco. El tejido vegetal de cada una de las plantas se colocó en un mortero estéril y fue macerado. Una vez pulverizadas se vertieron en el frasco que contenía la solución hidroalcohólica, se homogeneizó y se dejó reposar por 3 días a 4°C. Posteriormente se destiló en rotavapor y se procesó como en el caso anterior, finalmente se conservó en frasco ámbar a 4°C hasta su utilización.

6.3 Identificación de los componentes químicos

Pruebas fitoquímicas

El análisis de los componentes químico se realizó por triplicado mediante pruebas cualitativas y colorimétricas para determinar la presencia de metabolitos secundarios.

Para cada una de las pruebas se utilizaron plantas frescas, que se maceraron en un mortero hasta obtener una consistencia pastosa.

Prueba de alcaloides

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado de la planta, se adicionó etanol al 96% hasta cubrir el macerado, se agitó, se llenaron 4 pocillos y un control solo con etanol al 96%. En tres pocillos se pusieron 4 gotas del reactivo de Dragendorff.

Interpretación: Se considera como resultado positivo si hay cambio de coloración tanto en el sobrenadante como en el sedimento (Bañuelos *et al.*, 2016).

Prueba para saponinas

En un tubo de ensaye se colocó 1 g del macerado, se adicionó agua destilada a una temperatura de 70°C, se agitó vigorosamente durante 1min con la mano.

Interpretación: Si se forma espuma y se mantiene entonces es prueba positiva a saponinas (Verde *et al.*, 2016).

Prueba de esteroides y terpenos

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado, se le adicionó cloroformo hasta cubrir el macerado y luego se agregó 1ml de la solución de Liebermann.

Interpretación: Si se intensifica la coloración, la prueba es positiva (Verde *et al.*, 2016).

Prueba de Salkowski para esteroides y terpenos

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado, se adicionó cloroformo hasta cubrir la muestra, se agregó 1ml de ácido sulfúrico concentrado.

Interpretación: El cambio de coloración es una prueba positiva (Yadav *et al.*, 2011).

Prueba de fenoles

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado, se le agregó etanol al 96% hasta cubrir la muestra, se agitó se llenaron 4 pocillos y un control. En tres pocillos se adicionaron 2 gotas de cloruro férrico 5% (FeCl₃).

Interpretación: Si se observa un color azul indica que hay presencia de fenoles o taninos pirogálicos y si el color es verde hay fenoles o taninos de tipo catecol (Verde *et al.*, 2016).

Prueba de flavonoides

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado, se agregó de etanol al 96% hasta cubrir la muestra. Se le adicionó, una viruta de magnesio para oxidar y 3 gotas de ácido clorhídrico.

Interpretación: Si la muestra vira hacia el color rojo, el resultado es positivo (Verde *et al.*, 2016).

Prueba de cumarinas

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado, se agregó hidróxido de sodio hasta cubrir la muestra, después se le agregaron 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. Se espero un cambio de coloración.

Interpretación: Si hay una coloración amarilla indica que el resultado es positivo a cumarinas (Verde *et al.*, 2016).

Prueba de antocianinas

A tres tubos de ensaye se les colocó 1g de la muestra a cada uno, a los tres se les agregó etanol al 96% hasta cubrir la muestra, al segundo tubo se le agregaron 4 gotas de ácido clorhídrico concentrado y al tercer tubo se le agregaron 10 gotas de hidróxido de sodio al 10%.

Interpretación: La coloración amarilla intensa indica que es positivo a antocianinas (Bañuelos *et al.*, 2016).

Prueba de carbonilo

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado, se agregaron 2ml de fenilhidrazina/etanol se incubó a baño maría a 70°C durante 15 min y después 30 min en refrigeración.

Interpretación: Si se observa el cambio de coloración de leve a intenso indica positivo a carbonilo (Verde *et al.*, 2016).

Insaturaciones

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado, se adicionó etanol al 96% hasta cubrirlo, se agitó y se llenaron 4 pocillos y un control. En tres pocillos se adicionó una gota de permanganato de potasio (K_2MNO_4) al 2%.

Interpretación: Si vira a color rojo o violeta se considera una muestra positiva (Verde *et al.*, 2016).

Sesquiterpenlactonas

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado, se le adicionó etanol al 96% hasta cubrir la muestra y se agregó el reactivo de Baljet, se esperó durante 15 min.

Interpretación: Si hay cambio de coloración a rojo el resultado es positivo (Bañuelos *et al.*, 2016).

Prueba de azúcares reductores

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado, se agregaron 4 gotas del reactivo de Molish (alfa-naftol al 1% en etanol) y 1ml de ácido sulfhídrico.

Interpretación: Si se observa transparente la prueba es negativa y si no lo es, se considera prueba positiva (Garza *et al.*, 2010).

Prueba de lactonas

En un tubo de ensaye se colocó 1g del macerado, se adicionó etanol al 96% hasta cubrir la muestra, se agregó hidróxido de potasio y 3 gotas de ácido clorhídrico.

Interpretación: Si se pierde el color es positivo y si se queda amarillo es negativo (Verde *et al.*, 2016).

6.4 Evaluación de actividad antimicrobiana

Las especies bacterianas utilizadas en este trabajo fueron amablemente donadas por el Hospital del Niño Poblano. Las especies utilizadas fueron *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Se corroboró la morfología colonial en medios selectivos, se realizó la tinción de Gram y se hicieron pruebas bioquímicas indicadas para cada especie. Estas pruebas fueron oxidasa, catalasa, Citrato de Simmons, Movilidad indol ornitina (MIO), Agar hierro triple Azúcar (TSI), Urea y Agar hierro lisina (LIA).

6.4.1 Conteo por goteo en placa (UFC/ml)

Se realizó la técnica de conteo por goteo en placa de las especies bacterianas analizadas con la finalidad de inocular la dosis adecuada para las pruebas de inhibición del crecimiento. Se sembraron 10µL de cada especie (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) en tubos que contenían 3ml de medio Luria Bertani (LB), se incubaron 37°C (Model 10-140 Incubator) durante 24 horas (pre-inóculo). Posteriormente en tubos eppendorff se colocaron de manera seriada 900 µL de agua destilada estéril, al primer tubo y se le agregaron 100 µL del pre-inóculo previamente agitado, para tener una dilución de 1×10^1 , se continuaron las diluciones seriadas hasta obtener una dilución 1×10^8 . Después en placas de medio LB divididas en 8 secciones, se sembraron 2µL de cada dilución y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Al siguiente día se registraron las UFC's de las diluciones que permitieron el conteo (según la fórmula indicada abajo. Cada prueba se hizo por triplicado (Figura. 9).

UFC/ml= (#promedio de colonias contadas) (1/dilución) (1/Vol. Sembrado en litros)

Fórmula tomada de Corral *et al.*, 2012

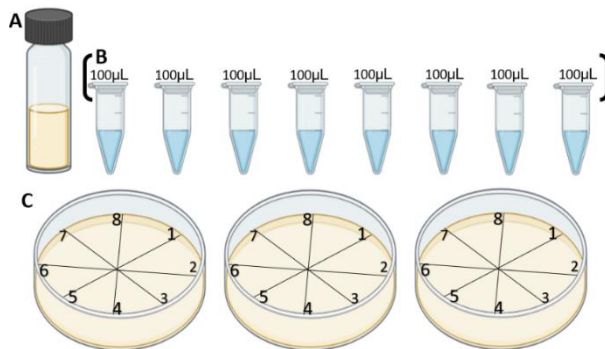


Figura 9. Conteo de UFC/ml. A) Pre-inóculo B) Diluciones C) Placas sembradas

6.4.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.

Para evaluar la actividad antimicrobiana en medio líquido, se prepararon tubos con 3 ml de caldo LB, a cada uno de estos se le agregaron 3 ml del extracto de hojas frescas o secas de *P. ruderale* o *P. linaria* y se inocularon con 3 μ L de la especie bacteriana correspondiente a una concentración de 1×10^8 UFC/ml, esto se hizo por triplicado; el tubo control contenía el extracto y medio LB. Los cultivos se incubaron a 37°C durante 24hr y se midieron las absorbancias en un espectrofotómetro (Thermo Scientific GENESYS 20) a 625 nanómetros (nm). Se utilizó medio LB como blanco y como control del crecimiento (Figura. 10)

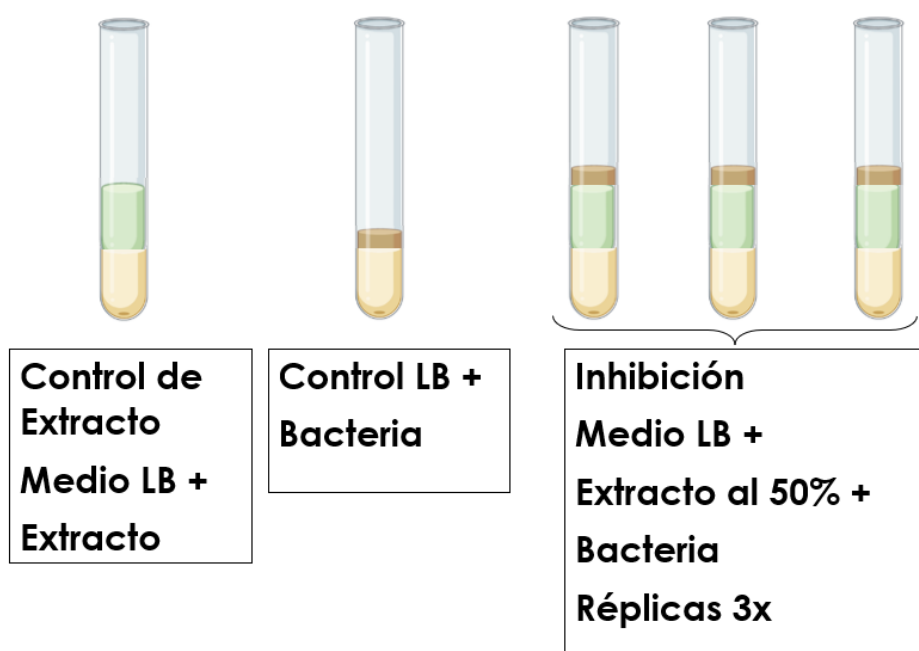


Figura 10. Evaluación antimicrobiana con extracto de hojas frescas o secas de *P. ruderale* y *P. linaria*

6.5 Síntesis de nanopartículas

Técnica 1

Para realizar la síntesis de nanopartículas los extractos fueron liofilizados (liofilizadora LABCONCO, FREEZONE DRY SYSTEMS) colocándolos en tubos falcon estériles, con 25 mL de cada extracto previamente congelado a -4°C durante

8 horas y a -80°C por 3 días, posteriormente se cubrieron los tubos con papel parafilm y se realizaron pequeñas aberturas, al comenzar el proceso de liofilización se esperó a que la máquina llegara a -52°C , se encendió el motor de vacío (se esperó a que el vacío llegará a un rango de -0.016 a -0.022 libras), se dejaron las muestras durante 7 días y por último se retiraron y almacenaron los extractos liofilizados a -4°C .

Se realizó la síntesis verde de nanopartículas de oro utilizando el método de reducción química o método de Turkevich, que consistió en la reducción de iones de la sal metálica de ácido tetracloroáurico (HAuCl_4) en átomos con valencia cero, mediante el uso de un agente reductor, es decir, el extracto de *P. ruderale* o *P. linaria*, a través de una reacción en agua en presencia de calor. El procedimiento consistió en hacer una solución de un 1 ml de ácido tetracloroáurico (HAuCl_4) al 4 % en agua desionizada (20 μL de HAuCl_4 en 980 μL de H_2O desionizada), en un vaso de precipitado se colocaron 200ml de agua desionizada, de añadió 0.01g de extracto liofilizado de *P. ruderale* o *P. linaria* (según sea la síntesis), se agitó por 10 minutos, posteriormente se filtró con papel filtro Whatman (25 μm) se llevó a ebullición a 95°C y la solución se sometió a agitación constante. Se vigiló que la temperatura de la solución no cambiara y una vez que la muestra empezó a ebullicir, se le adicionó 1 ml de la solución de oro previamente preparada. La solución se dejó ebullicir durante 40 minutos. En este tiempo se observaron los cambios de color en la solución desde incolora hasta llegar a una coloración violeta, esto indica que la solución coloidal de nanopartículas de oro ha finalizado, se obtuvo un volumen final cercano a 150 ml. Después de que la solución se enfrió, se realizó la medición por espectroscopía UV-Vis en un rango de 325 a 1100 nm (Bonilla *et al.*, 2021).

Técnica 2

Para este método, se utilizó el mismo agente reductor *P. ruderale* y *P. linaria*, el precursor se usó al 4% (40 μl de HAuCl_4 en 960 μl de agua desionizada estéril), se colocaron 200 ml de agua desionizada estéril en un vaso precipitado, se añadió 500 μl del agente precursor, se llevó a punto de ebullición. Para encontrar los mejores resultados se sometió a diferentes condiciones de temperatura y peso: 0.01g a

95°C, 0.01g a 80°C, 0.1g a 93°C, 0.1g a 80°C, 0.005g a 95°C y 0.1g a 95°C con hoja seca. En lo que llegaba a temperatura adecuada se pesó 0.1gr del extracto liofilizado de cada una de las especies vegetales, se disolvió en 10ml de agua desionizada. Una vez disuelto se añadieron 3ml del agente reductor ya sea *P. ruderale* o *P. linaria*, se empezó a contar un tiempo de 30 min, al igual que el método anterior mientras transcurría el tiempo de la síntesis hubo cambios de coloración, llegando hasta un color violeta, el volumen final fue de aproximadamente 150ml.

6.5.1 Caracterización por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

El análisis por FTIR da la composición química de las nanopartículas, para identificar algunos de los grupos funcionales conjugados de la nanopartícula a partir de una pequeña cantidad de muestra. Para la caracterización de las muestras por FTIR se utilizó un espectrómetro de la marca Bruker Optics, modelo Vertex 70 con un sistema de reflexión total atenuada (ATR). Se leyeron las muestras por separado de cada extracto de *P. ruderale* y *P. linaria* al igual de las nanopartículas sintetizadas con estos extractos, se colocaron 2 µl sobre el cristal ATR y se esperó a que se seque, se prosiguió a leer la densidad óptica (DO) en el espectrofotómetro y los resultados se analizaron con el programa Origin (Pro) versión 6.

6.5.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana de nanopartículas de oro recubiertas con extracto de hojas de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.

Para evaluar la actividad antimicrobiana en medio líquido, se prepararon tubos con 3 ml de caldo LB, a cada uno de estos se le agregaron 3 ml de nanopartículas de oro recubiertas con extracto de hojas frescas de *P. ruderale* y *P. linaria* y se inocularon con 3 µL de la especie bacteriana correspondiente a una concentración de 1×10^8 UFC/ml, esto se hizo por triplicado. El tubo control contenía el extracto y medio LB, se incubaron a 37°C y se leyeron las absorbancias en un espectrofotómetro (Thermo Scientific GENESYS 20) a 625 nanómetros (nm) a las 24 hr. Se utilizó medio LB como blanco y como control del crecimiento.

6.6 Evaluación de la actividad antioxidante

6.6.1 DPPH técnica 1

Preparación del radical DPPH (1)

Para evaluar la actividad antioxidante se realizó mediante la técnica de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) el cual es un radical libre que es neutralizado por el agente antioxidante, en este caso los extractos de *P. ruderale* y *P. linaria* transfieren un hidrógeno, lo que resulta en un cambio a coloración amarilla (Mercado *et al.*, 2013). Para medir la curva del DPPH se pesó 3.93mg de DPPH y se disolvió en metanol al 80%, quedando con una concentración de 0.1mM. Del stock se hicieron diluciones con metanol 80% (Tabla 4).

Tabla 4. Concentraciones de DPPH

Concentración	Stock DPPH	Metanol 80%
0mM	0µl	1500µl
0.01mM	150µl	1350µl
0.02mM	300µl	1200µl
0.04mM	600µl	900µl
0.06mM	900µl	600µl
0.08mM	1200µl	300µl
0.1mM	1500µl	0µl

Se incubó 30min en oscuridad y leyó en un espectrofotómetro, su pico máximo de absorción es a 517nm, se usó metanol 80% como blanco.

Curva patrón de ácido ascórbico (A.A.)

Se pesaron 0.005 gr de ácido ascórbico y se disolvieron en 50ml de metanol 80%, se diluyó hasta obtener una concentración final de 500µg/ml. De esta última solución se hacen 6 diluciones diferentes (Tabla 5).

Tabla 5. Concentraciones de ácido ascórbico

Ácido ascórbico 500µg/ml	
Dilución (A.A.+ Metanol 80%)	Concentración A.A.
500µl + 0µl de metanol 80%	500µg/ml
400µl + 100µl de metanol 80%	400µg/ml
300µl + 200µl de metanol 80%	300µg/ml
200µl + 300µl de metanol 80%	200µg/ml
100µl + 400µl de metanol 80%	100µg/ml
100µl + 900µl de metanol 80%	50µg/ml

Determinación del porcentaje de inhibición de DPPH

Se pesó el radical DPPH 0.01 gramo, se disolvió en 100ml de metanol al 80% y se sónico durante 5 minutos (DPPH 2)

Se hicieron diluciones del extracto en metanol al 80%, mostrados en la tabla 6

Tabla 6. Concentraciones del extracto para su reducción con DPPH

Extracto	
Dilución (Extracto + Metanol 80%)	%
500µl + 0µl de metanol 80%	100%
400µl + 100µl de metanol 80%	80%
300µl + 200µl de metanol 80%	60%
200µl + 300µl de metanol 80%	40%
100µl + 400µl de metanol 80%	20%
100µl + 900µl de metanol 80%	10%

Por cada muestra se tomaron 10µl de cada dilución y se añadieron 490µl de DPPH (2). Una vez añadido este radical se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 min. Transcurrido el tiempo se midió la densidad óptica de los tubos en el espectrofotómetro de UV-visible. Se utilizó como blanco solución de metanol al 80%.

Los datos se analizaron mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inhibición} = 100 * (\text{Absorbancia DPPH} - \text{Absorbancia Extracto}) / \text{Absorbancia DPPH}$$

Fórmula tomada de Morales *et al.*, 2020

Además, se calculó la IC₅₀, la cual se define como la concentración del extracto que tiene el 50% de actividad antioxidante. Los resultados se expresaron como µg/ml de ácido ascórbico.

DPPH ELISA técnica 2

- Preparación solución DPPH

Se disolvieron 5.9mg de DPPH en un matraz aforado de 100ml con metanol 80%.

- Evaluación antioxidante

Se colocaron 25µl del extracto (extracto de *P. ruderale* y *P. linaria*) y 200µl del reactivo DPPH. Se incubó durante 40 min en oscuridad y se leyó a 517nm en un lector de ELISA (CCURIS™ instruments smartreader™ 96-T) (Ortiz *et al.*, 2023).

6.6.2 Contenido fenólico total

Esta prueba evalúa el contenido fenólico, es decir los compuestos fenólicos que se encuentran en las especies vegetales en las diferentes partes de sus órganos y que funcionan como agentes protectores contra patógenos, depredadores, radiación ultravioleta pero principalmente como antioxidante porque tiene la habilidad de quelar metales y capta radicales libres. El reactivo de Folin Cicolteu reconoce a los compuestos fenólicos reduciéndose, provocando un cambio de coloración de amarillo a azul (García *et al.*, 2015). Para evaluar el contenido fenólico total, se colocaron 150µl de la muestra (extracto de *P. ruderale* y *P. linaria*), 2250µl de agua destilada y 150µl del reactivo Folin-Ciocalteu. Se homogeneizó, después de 8 min, se le adicionaron 450µl de carbonato de sodio 20% y se incubó en oscuridad por 2 horas. Al final se leyó en un espectrofotómetro (VELAB) a 760nm. Para el control se utilizó ácido gálico (Ortiz *et al.*, 2023).

6.6.3 Contenido de flavonoides totales

Los flavonoides son metabolitos secundarios que participan en la protección de las especies vegetales, y que además tienen diferentes actividades, como antiinflamatoria, anticancerígena, antimicrobiana y principalmente antioxidante (Jordá, 2015). Para evaluar el contenido total de flavonoides totales, en un tubo de ensayo se añadieron 4ml de agua destilada, 1ml de muestra (extracto de *P. ruderale* y *P. linaria*), 300µl de nitrito de sodio 1M, después de 5 min se añadieron 300µl de tricloruro de aluminio, se agitó, posteriormente a los 5 min se adicionaron 2ml de hidróxido de sodio 1M, la solución se aforó a 10ml con agua destilada, se reposó durante 40 min en oscuridad y se midió la densidad óptica en un espectrofotómetro (VELAB) a 510nm. Como control positivo se utilizó quercetina a 0.1mg/ml (Ortiz *et al.*, 2023).

6.6.4 FRAP (poder antioxidante reductor del ion férrico)

El ensayo FRAP se basa en la capacidad de los antioxidantes para reducir el ion férrico (Fe^{3+}) al estado ferroso (Fe^{2+}). El ion forma un compuesto cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TPTZ). La prueba se basa en la capacidad reductora por transferencia de electrones. El compuesto Fe^{2+} -TPTZ da una coloración azul intensa que tiene una absorción máxima de 593nm (Mercado *et al.*, 2013, Benítez *et al.*, 2020).

- Preparación del reactivo

Se pesó 31.3mg del reactivo TPTZ se disolvió con HCl 40mM y se aforó a 10ml. Posteriormente se añadió $FeCl_3$ y 100ml del buffer de acetato, se incubó a 37°C con agitación por 5min.

Se colocaron 200µl de la muestra (extracto de *P. ruderale* y *P. linaria*), se añadieron 1800µl del reactivo incubado, se incubó durante 40min y se midió la DO en un espectrofotómetro (VELAB) a 593nm. El control positivo fue quercetina 0.6mg/ml (Ortiz *et al.*, 2023).

7. Estadística

Con el propósito de encontrar el tratamiento más eficiente se realizó la comparación del crecimiento bacteriano entre especies en hoja fresca y seca mediante ANOVA de una vía. Posteriormente, el mejor tratamiento se comparó utilizando una ANOVA de tres vías que incluyó: como primer factor la especie de *Porophyllum* (*P. ruderale* y *P. linaria*), como segundo factor los tratamientos realizados (control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido) y como tercer factor las especies bacterianas utilizadas (*S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli*). La comparación de las diferentes condiciones en el ensayo de nanopartículas fue realizada mediante el ANOVA de una vía. El valor de confianza fue del 95%. Se analizaron la normalidad y homocedasticidad de los datos. En los casos en que no hubo normalidad u homocedasticidad, los datos fueron transformados aplicando la transformación Box-Cox calculada por el programa JMP. Asimismo, la comparación por grupos fue realizada mediante la prueba de Tukey-Kramer. El software utilizado para los análisis estadísticos fue JMP 8.0 y JMP 10 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

8. Resultados

8.1 Obtención de los extractos

Se obtuvieron 2 extractos acuosos, uno de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y otro de *Prophyllum linaria* (Cav.) DC. El pH de ambos fue de 6, es decir, tienden a ser ácidos.

8.2 Pruebas fitoquímicas

Los metabolitos secundarios que presentaron *P. ruderale* y *P. linaria* están listados en la tabla 7. *Porophyllum ruderale* y *P. linaria* presentaron todos los metabolitos analizados, excepto cumarinas. *Porophyllum linaria* presentó mayores concentraciones de alcaloides, fenoles e insaturaciones. *Porophyllum ruderale* presentó mayor cantidad de flavonoides en contraste con *P. linaria* (Tabla 7).

Tabla 7. Resultados de las pruebas fitoquímicas en *P. ruderale* y *P. linaria*.

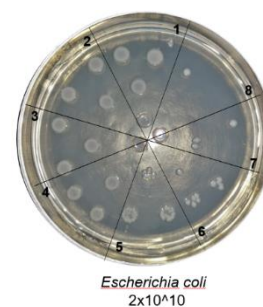
Prueba	<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass	<i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.
Alcaloides (Dragendorff)	+	++
Fenoles	+	++
Insaturaciones	+	++
Sesquiterpenlactonas (Baljiet)	+	+
Esteroides y terpenos (Liebermann- Burchard)	+	+
Esteroides y terpenos (Salkowski)	++	++
Flavonoides	++	+
Lactonas	++	++
Cumarinas	-	-
Saponinas	++	++
Antocianinas	++	++
Azúcares reductores	+	+
Grupo carbonilo	+	+

Interpretación: (-) Negativo o sin presencia, (+) Positivo, (++) Doble positivo, se caracteriza por amplia presencia de precipitado o cambio de coloración. *Fotos en Anexos.

8.3 Actividad Antimicrobiana

8.3.1 Conteo de UFC/ml

Después de transcurridas 24 horas de incubación, se procedió a contar el número de colonias que había en cada una de las placas aplicando la fórmula antes mencionada. El número de UFC/ml resultó en 2×10^{10} (Figura 11).



Figuran 11. Conteo de UFC/ ml de *E. coli*

8.3.2 Pruebas bioquímicas

Se realizaron pruebas bioquímicas para confirmar la especie de bacteria con la que se estaba trabajando. Los resultados corroboran la identidad de las especies bacterianas estudiadas.

Tabla 8. Resultados de las pruebas bioquímicas para cada una de las especies bacterianas analizadas.

Prueba	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
UREA	Positiva	Negativa	Negativa	Positiva
MIO	Negativo	Negativo	Móvil Indol positivo Ornitina positiva	Negativa
Citrato	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo
LIA	Decarboxilación de la lisina +	Decarboxilación de la lisina -	Decarboxilación de la lisina+	Decarboxilación de la lisina +
TSI	A/A Color amarillo EI microorganismo fermenta glucosa, lactosa y sacarosa	A/A Color amarillo EI microorganismo fermenta glucosa. Lactosa y sacarosa	A/A Color amarillo EI microorganismo fermenta glucosa, lactosa y sacarosa	A/A Color amarillo EI microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa
Nitrato	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
O/F	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Catalasa	Positiva	Negativa	Positiva	Positiva
Oxidasa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

* Fotos en los anexos.

8.3.3 Análisis de crecimiento bacteriano en presencia de los extractos de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.

El crecimiento bacteriano, se analizó mediante absorbancia en medio líquido. Los extractos acuosos de *P. ruderale* y *P. linaria* se utilizaron para analizar la inhibición en el crecimiento de las 4 especies bacterianas a las 24 horas de incubación.

La inhibición del crecimiento bacteriano por acción de los extractos fue comprobada en tanto en *P. ruderale* como en *P. linaria*.

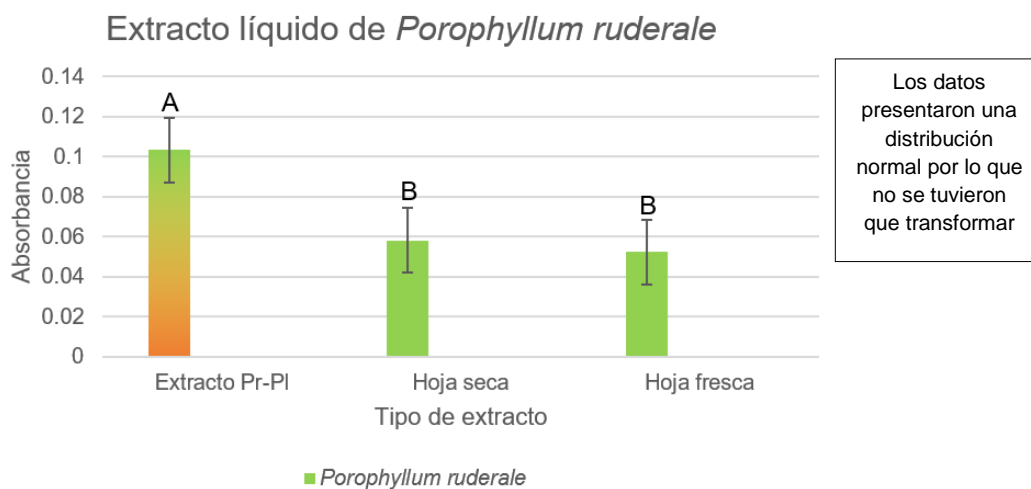
En total fueron 15 tratamientos que se aplicaron para medir la actividad antimicrobiana de los extractos en forma de extracto y nanopartícula.

Tabla 9. Listado de tratamientos utilizados.

Número de tratamiento	Tratamiento
Extracto líquido	
1	Extracto líquido de hoja fresca
2	Extracto líquido de hoja seca
3	Extracto líquido de hoja fresca de <i>P. ruderale</i> y <i>P. linaria</i> juntos
Extracto liofilizado	
4	Extracto liofilizado 0.01g 95°C Hoja fresca
5	Extracto liofilizado 0.01g 80°C Hoja fresca
6	Extracto liofilizado 0.1g 93°C Hoja fresca
7	Extracto liofilizado 0.1g 80°C Hoja fresca
8	Extracto liofilizado 0.1g 95°C Hoja seca
Nanopartículas	
9	0.1g 95°C AuNPs Hoja fresca
10	0.01g 95°C AuNPs Hoja fresca
11	0.01g 80°C AuNPs Hoja fresca
12	0.1g 93°C AuNPs Hoja fresca
13	0.1g 80°C AuNPs Hoja fresca
14	0.005g 95°C AuNPs Hoja fresca
15	0.1g 95°C AuNPs Hoja secas

Análisis del extracto líquido de *P. ruderale* en el crecimiento bacteriano

El análisis del efecto sobre el crecimiento bacteriano de diferentes extractos líquidos elaborados con hoja fresca y seca de *P. ruderale*, así como la combinación de extractos de ambas especies, muestra que la condición que mejor inhibe el desarrollo de la bacteria es el extracto líquido elaborado a partir de hoja fresca de *P. ruderale* ($F_{(0.05, 2, 33)} = 9.3351$, $P = 0.0006$) (Gráfica 1, Tabla 10). El análisis estadístico fue realizado mediante ANOVA de una vía.



Gráfica 1. Comparación del crecimiento bacteriano en presencia de extracto líquido de *P. ruderale* y los extractos juntos de *P. ruderale* y *P. linaria*, en hoja fresca y hoja seca. Letras diferentes muestran las diferencias significativas.

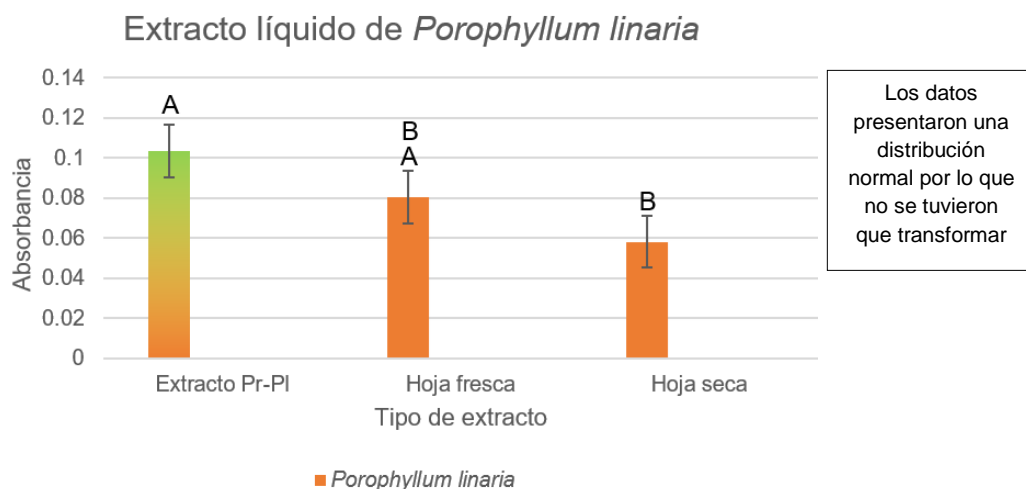
*La combinación de extractos de *P. ruderale* con *P. linaria* fue elaborado a partir de hoja fresca para ambas especies.

Tabla 10. Análisis de varianza de una vía extracto líquido *P. ruderale*

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	2	0.01870022	0.009350	9.3351
Error	33	0.03305300	0.001002	Prob > F
C. Total	35	0.05175322		0.0006*

Análisis del extracto líquido de *P. linaria* en el crecimiento bacteriano

El análisis del efecto sobre el crecimiento bacteriano de diferentes extractos líquidos elaborados con hoja fresca y seca de *P. linaria*, así como la combinación de extractos de ambas especies, muestra que la condición que mejor inhibe es el extracto líquido elaborado a partir de hoja seca de *P. linaria* ($F_{(0.05, 2, 33)} = 4.4254$, $P = 0.0198$) (Gráfica 2, Tabla 11). El análisis estadístico fue realizado mediante ANOVA de una vía.



Gráfica 2. Comparación del crecimiento bacteriano en presencia de extracto líquido de *P. linaria* en hoja fresca y hoja seca y extractos juntos de *P. linaria* y *P. ruderale*. Letras diferentes muestran las diferencias significativas.

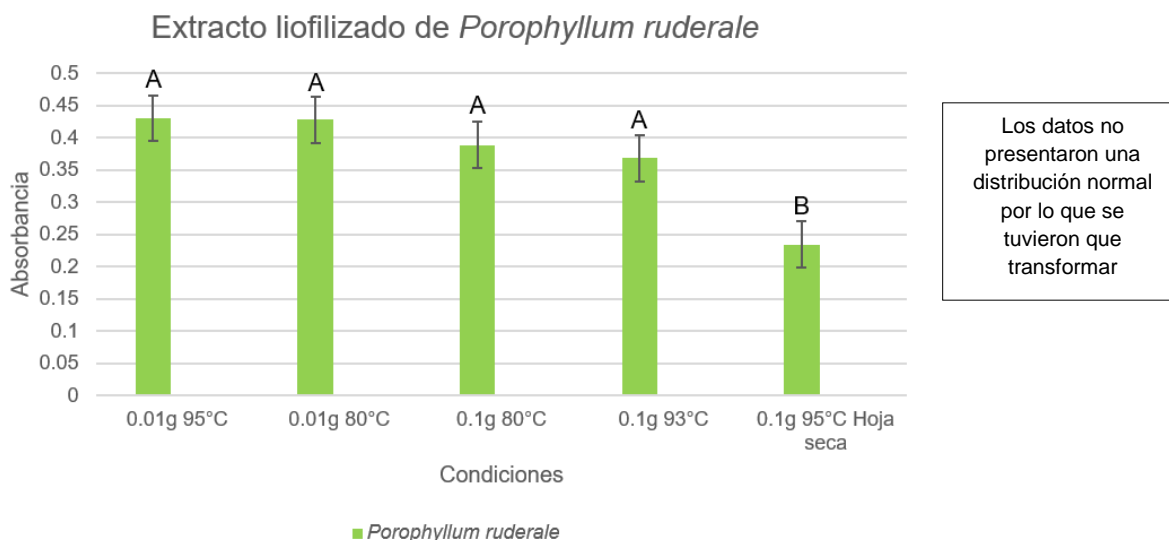
*La combinación de extractos de *P. ruderale* con *P. linaria* fue elaborado a partir de hoja fresca para ambas especies.

Tabla 11. Análisis de varianza de una vía extracto líquido *P. ruderale*

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	2	0.01224217	0.006121	4.4254
Error	33	0.04564458	0.001383	Prob > F
C. Total	35	0.05788675		0.0198*

Análisis del extracto liofilizado de *P. ruderale* en el crecimiento bacteriano

El análisis del efecto sobre el crecimiento bacteriano de diferentes extractos liofilizados elaborados bajo distintas condiciones de peso y temperatura muestra que la condición que mejor inhibe es extracto liofilizado a partir de hoja seca con un peso de 0.1g a 95°C ($F_{(0.05, 4, 55)} = 8.5099$ $P = <0.0001$) (Gráfica 3, Tabla 12). El análisis estadístico fue realizado mediante ANOVA de una vía.



Gráfica 3. Comparación del crecimiento bacteriano en presencia de extracto liofilizado de *P. ruderale* elaborado bajo distintas condiciones de peso y temperatura. Letras diferentes muestran las diferencias significativas.

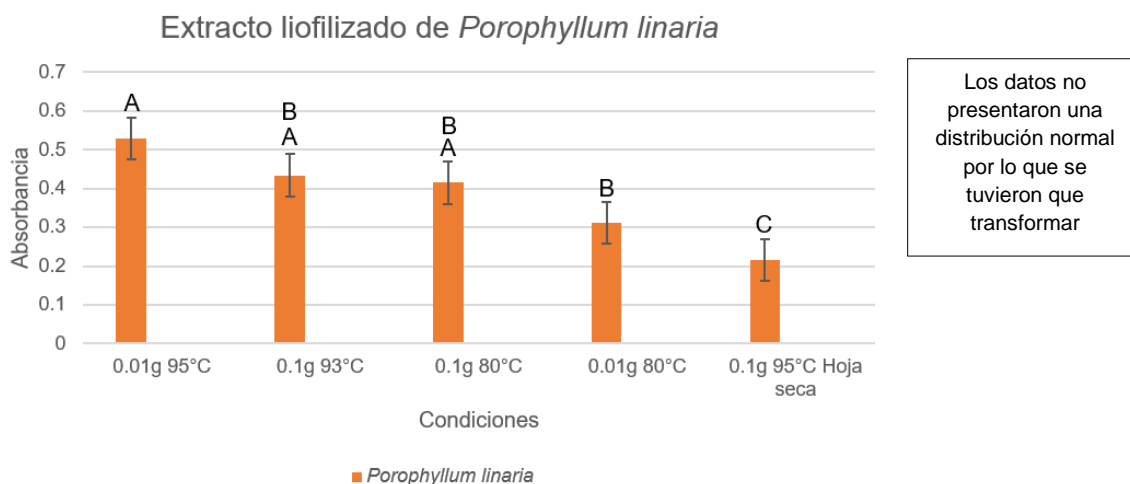
*Los tratamientos 0.1g a 95°C, 0.01g a 80°C, 0.1g a 80°C y 0.1g a 93°C, fueron realizados en hojas frescas y el tratamiento realizado con 0.1g a 95°C fue en hojas secas.

Tabla 12. Análisis de varianza de una vía extracto liofilizado *P. ruderale*

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	4	0.37888170	0.094720	8.5099
Error	55	0.61218694	0.011131	Prob > F
C. Total	59	0.99106864		<.0001*

Análisis del extracto liofilizado elaborado a partir de distintas condiciones en *P. linaria* sobre el crecimiento bacteriano

El análisis del efecto sobre el crecimiento bacteriano de diferentes extractos liofilizados elaborados bajo distintas condiciones de peso y temperatura muestra que las condiciones de 0.01g a 95°C, 0.1g a 93°C, 0.1g a 80°C no muestran diferencias significativas entre los tres tratamientos, sin embargo, la condición 0.01g a 80°C a partir de hoja fresca muestra una disminución en el crecimiento bacteriano observado de manera indirecta a través de la absorbancia. Asimismo, la disminución en el incremento bacteriano fue más notable en el tratamiento 0.1g a 95°C elaborado a partir de hoja seca ($F_{(0.05, 4, 55)} = 9.7245$ $P = <0.0001$) (Gráfica 4, Tabla 13). El análisis estadístico fue realizado mediante ANOVA de una vía.



Gráfica 4. Comparación del crecimiento bacteriano en presencia de extracto liofilizado de *P. linaria*. Letras diferentes muestran las diferencias significativas.

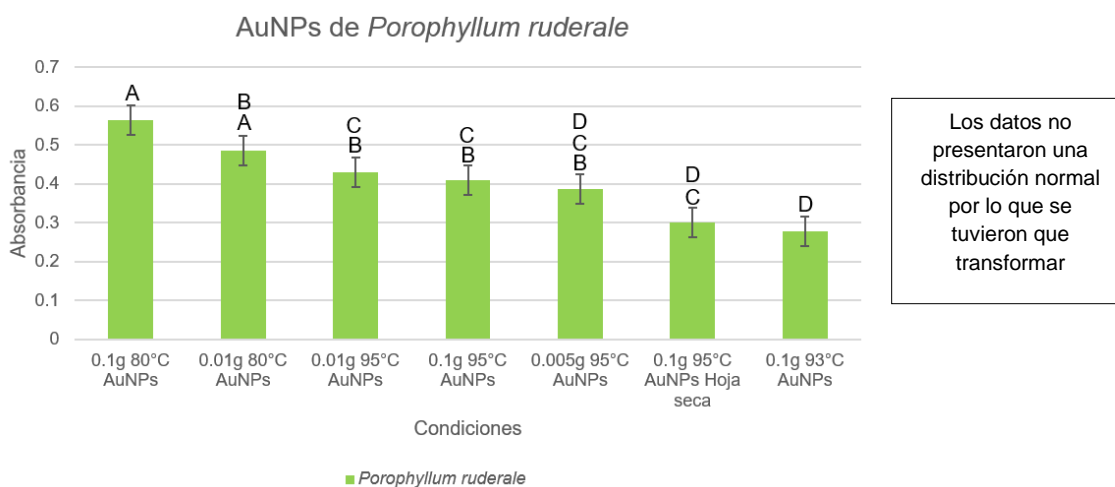
Tabla 13. Análisis de varianza de una vía extracto liofilizado *P. linaria*

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	4	0.6991239	0.174781	9.7245
Error	55	0.9885327	0.017973	Prob > F

C. Total	59	1.6876566		<.0001*
----------	----	-----------	--	---------

Estandarización de las condiciones para la elaboración de las nanopartículas en *P. ruderale*

Con la finalidad de encontrar la mejor condición para la elaboración de las nanopartículas con el extracto de *P. ruderale* se hizo un análisis comparativo entre 7 distintas condiciones, de las cuales 6 condiciones fueron elaboradas a partir de extracto liofilizado de hoja fresca: 0.1g a 80°C, 0.01g a 80°C, 0.01g a 95°C, 0.1g a 95°C, 0.005g a 95°C, 0.1g a 93°C; a diferencia de la condición 0.1g a 95°C que fue elaborada a partir de extracto liofilizado de hoja seca. El efecto fue evaluado a través de la inhibición del crecimiento bacteriano. Los resultados mostraron que la mejor condición para inhibir el crecimiento bacteriano fue 0.1g a 93°C teniendo diferencias significativas ($F_{(0.05, 6, 77)} = 10.7755$, $P = 0.0001$) (Gráfica 5, Tabla 14). El análisis estadístico fue realizado mediante ANOVA de una vía.



Gráfica 5. Comparación del crecimiento bacteriano en presencia de nanopartículas de *P. ruderale*. Letras diferentes muestran las diferencias significativas.

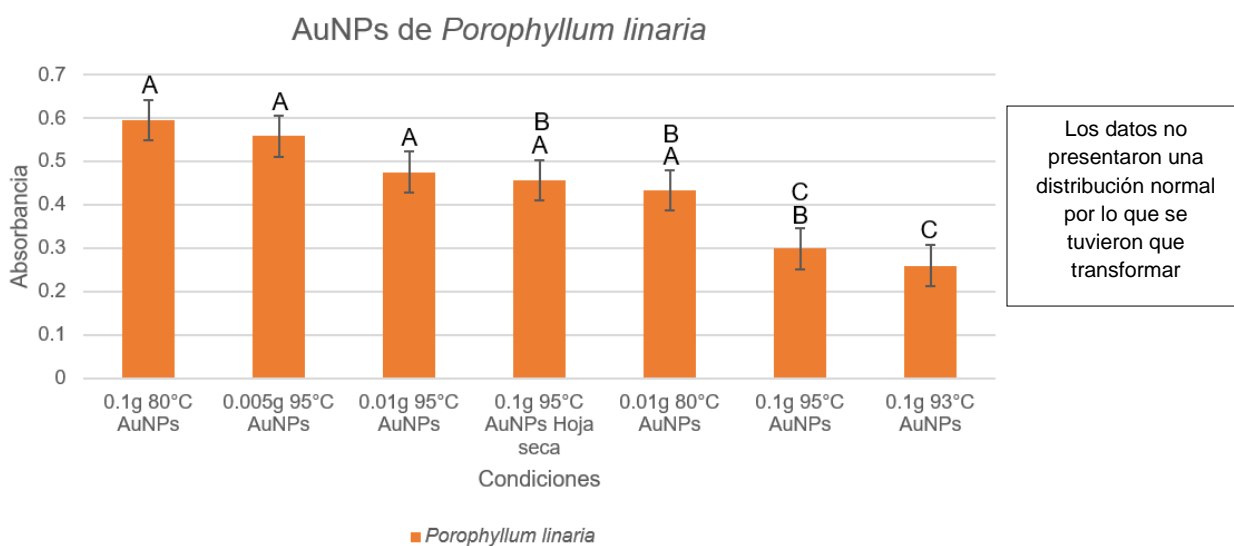
Tabla 14. Análisis de varianza de una vía nanopartículas *P. ruderale*

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	6	0.7229102	0.120485	10.7755
Error	77	0.8609687	0.011181	Prob > F

C. Total	83	1.5838790	<.0001*
----------	----	-----------	---------

Estandarización de las condiciones para la elaboración de las nanopartículas en *P. linaria*

El análisis comparativo para encontrar la mejor condición en la elaboración de nanopartículas a partir del extracto liofilizado de *P. linaria*, *mostró* que los tratamientos de 0.1g a 95°C y 0.1g a 93°C elaborados a partir del extracto liofilizado de hoja fresca inhibieron con mejores resultados el crecimiento de las especies bacterianas ($F_{(0.05, 6, 77)} = 12.8135$ $P = <0.0001$) (Gráfica 6, Tabla 15).



Gráfica 6. Comparación del crecimiento bacteriano en presencia de nanopartículas de *P. linaria*. Letras diferentes muestran las diferencias significativas.

Tabla 15. Análisis de varianza de una vía nanopartículas *P. linaria*

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	6	1.1527067	0.192118	12.8135
Error	77	1.1544882	0.014993	Prob > F
C. Total	83	2.3071949		<.0001*

Análisis de varianza de tres vías con los mejores tratamientos de *Porophyllum ruderale* y *Porophyllum linaria*

De acuerdo con el resultado del análisis estadístico realizado con todas las condiciones se seleccionó el mejor tratamiento para nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido. Las mejores condiciones por su inhibición bacteriana se muestran en la Tabla 16. Una ANOVA de tres vías se realizó con los mejores tratamientos de cada una de las especies vegetales.

Tabla 16. Mejores tratamientos de *P. ruderale* y *P. linaria*

Condiciones	Especie vegetal
Nanopartículas 0.1g 93°C AuNPs	<i>P. ruderale</i>
Nanopartículas 0.1g 93°C AuNPs	<i>P. linaria</i>
Extracto liofilizado 0.1g 95°C Hoja seca	<i>P. ruderale</i>
Extracto liofilizado 0.1g 95°C Hoja seca	<i>P. linaria</i>
Extracto líquido hoja fresca	<i>P. ruderale</i>
Extracto líquido Hoja seca	<i>P. linaria</i>

El análisis de varianza de tres vías mostró diferencias significativas en al menos algunos de los tratamientos ($F = (0.05, 31, 60) 714.7635$, $P = <0.0001$) (Tabla 17). La prueba de efectos del análisis de varianza de tres vías (tratamientos, especie vegetal, especie bacteriana y sus respectivas interacciones) mostró diferencias significativas en cada uno de los niveles incluyendo todas sus interacciones (Tabla 18).

Tabla 17. Análisis de varianza de tres vías, tratamientos, especie vegetal y especie bacteriana

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	31	4.7897090	0.154507	714.7635
Error	60	0.0129699	0.000216	Prob > F
C. Total	91	4.8026789		<.0001*

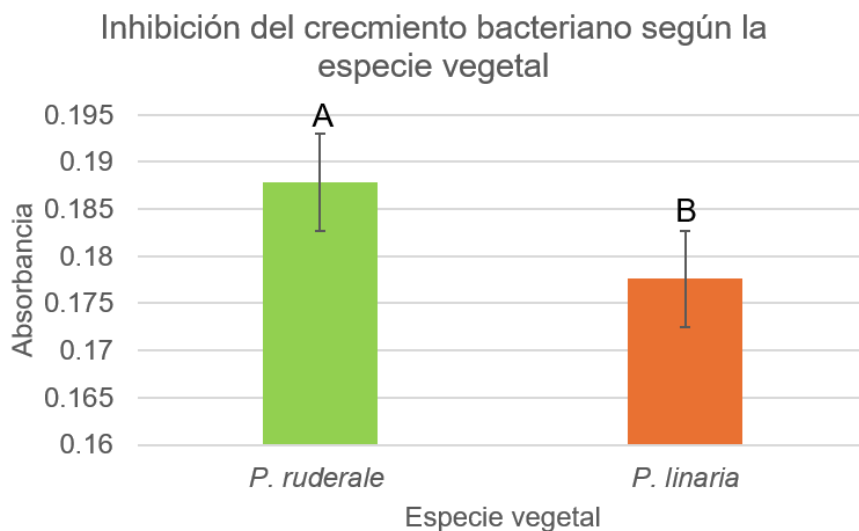
Tabla 18. Prueba de efectos del análisis de varianza de tres vías tratamientos, especie vegetal, especie bacteriana y sus interacciones.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	F	Prob > F
Especie vegetal	1	0.00316	14.6578	0.0003*
Tratamientos	3	4.28851	6613.038	<.0001*
Especie vegetal x Tratamientos	3	0.00499	7.7031	0.0002*
Bacteria	3	0.14719	226.9775	<.0001*
Especie vegetal x Bacteria	3	0.03904	60.2121	<.0001*
Tratamientos x Bacteria	9	0.09898	50.8778	<.0001*
Especie vegetal x Tratamientos x Bacteria	9	0.10255	52.7156	<.0001*

x: interacciones entre grupos

Comparación entre las especies *P.ruderales* y *P. linaria*

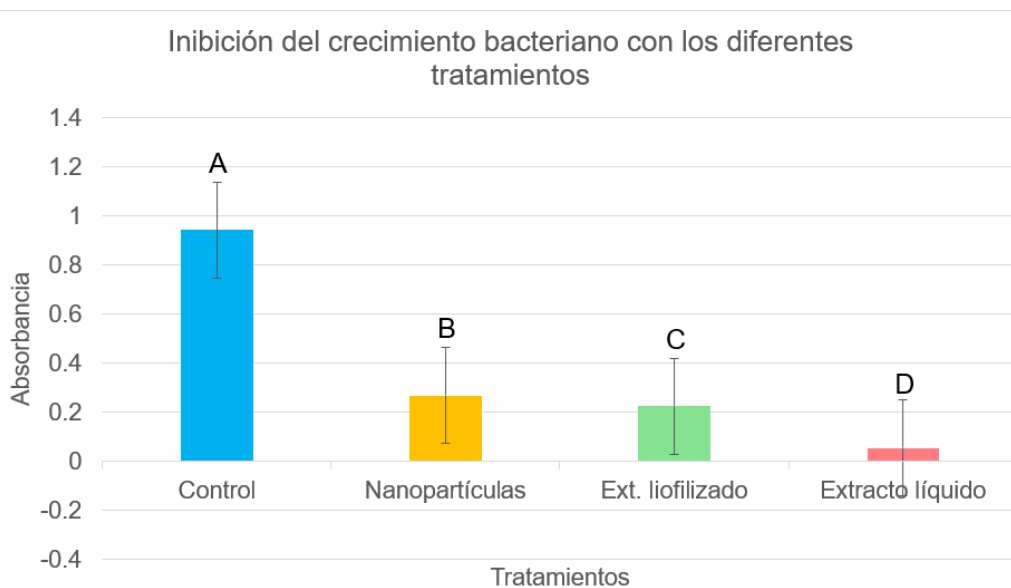
El análisis de varianza mostró diferencias entre las especies ($F_{(0.05, 1, 60)} = 14.6578$, $P < 0.0001$). La comparación a posteriori mediante la prueba de Tukey-Kramer, indicó que *P. linaria* reduce con mayor efectividad el crecimiento en las bacterias en contraste con *P. ruderales* (Gráfica 7, Tabla 18).



Gráfica 7. Comparación de las especies *P. ruderales* y *P. linaria*. Letras diferentes muestran las diferencias significativas por la comparación de Tukey-Kramer.

Comparación al interior de los tratamientos: control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido

La comparación de los tratamientos control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido mostró diferencias significativas en al menos alguno de los tratamientos ($F_{(0.05, 3, 60)} = 6613.038$, $P < 0.0001$) (Tabla 18). La comparación a posteriori mediante la prueba de Tukey-Kramer mostró que el extracto líquido causó la mayor disminución en el crecimiento bacteriano comparado con el grupo control. Los tratamientos extracto liofilizado y nanopartículas también causaron una disminución en el crecimiento de las bacterias. La efectividad se dio en el siguiente orden: extracto líquido > extracto liofilizado > nanopartículas (Gráfica 8). Cabe resaltar que el grupo control que contiene únicamente medio de crecimiento, tuvo la menor inhibición en el crecimiento de las bacterias, en contraste con los tratamientos extracto líquido, extracto liofilizado y nanopartículas. La disminución en la absorbancia, que es un indicador del número de bacterias, fue de hasta 17 veces en el grupo extracto líquido *versus* el grupo control. Ello demuestra una eficiencia alta de los extractos de *Porophyllum* como inhibidores del crecimiento bacteriano.

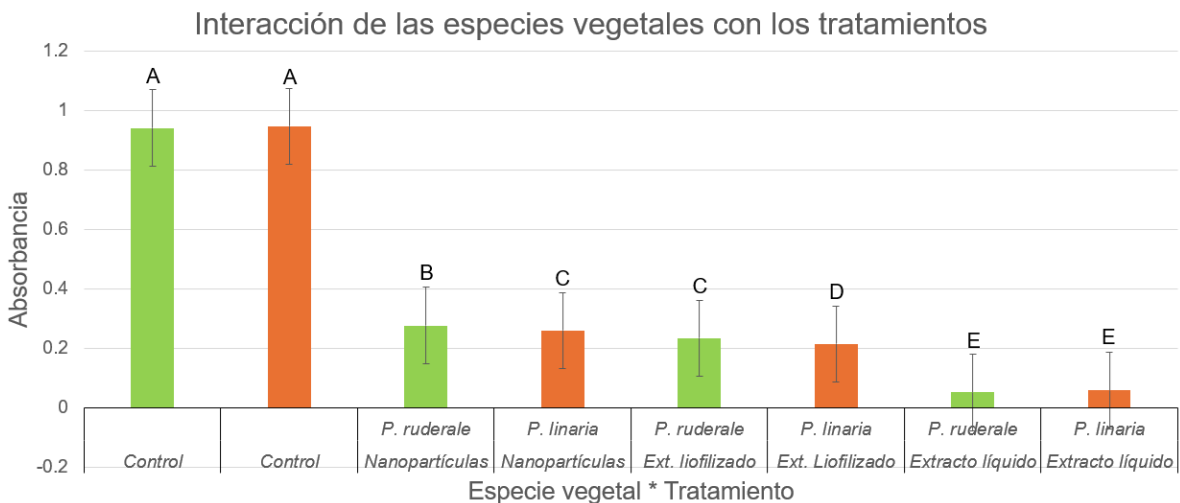


Gráfica 8. Comparación de tratamientos control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido. Letras diferentes muestran las diferencias significativas por la prueba de Tukey-Kramer.

Efecto de la interacción de las especies vegetales con los tratamientos

El efecto de la especie vegetal: *P. ruderales* y *P. linaria*, en relación con cada uno de los tratamientos: control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido, mostró que hay un efecto dependiente entre el tratamiento y la especie vegetal ($F_{(0.05, 3, 60)}=7.7031, P< 0.0001$) (Tabla 18).

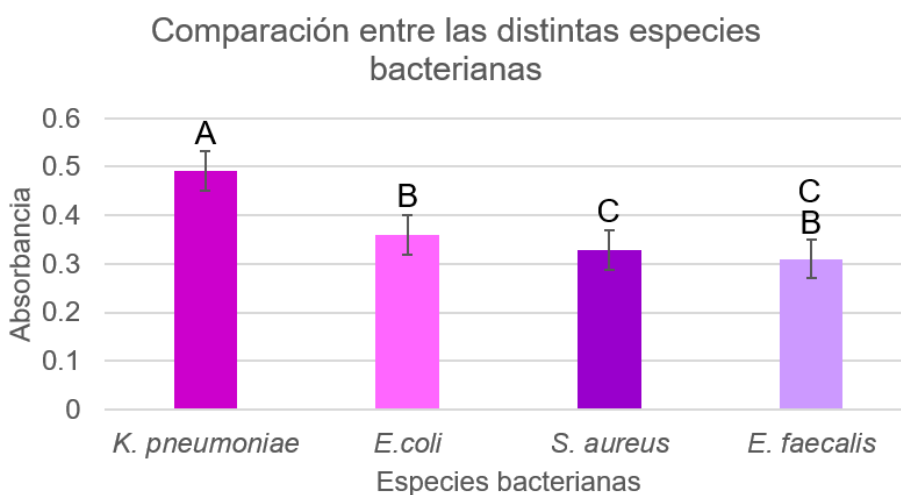
La comparación *a posteriori* mediante la prueba de Tukey-Kramer mostró que el extracto líquido tanto en *P. ruderales* como en *P. linaria* presentan una disminución en el crecimiento bacteriano con respecto a los demás tratamientos; no obstante, el desempeño de ambas especies fue estadísticamente igual. Cabe destacar que el control muestra un crecimiento normal de las bacterias, que resultó significativamente mayor con respecto al crecimiento de las bacterias en presencia de alguno de los extractos en sus tres modalidades (Gráfica 9). Los resultados demuestran la efectividad de los extractos líquidos, liofilizado y nanopartículas en la reducción del crecimiento bacteriano. Por otro lado los tratamientos con extracto liofilizado y nanopartículas en *P. ruderales* y *P. linaria* muestran un efecto dependiente de la especie; resaltando que *P. linaria* tuvo una mejor eficiencia en la disminución del crecimiento bacteriano con respecto a *P. ruderales* en ambos tratamientos (Gráfica 9).



Gráfica 9. Interacción de las especies vegetales *P. ruderales* y *P. linaria* con los tratamientos: control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido. Letras diferentes muestran las diferencias significativas comparadas mediante la prueba de Tukey-Kramer.

Comparación de la inhibición del crecimiento bacteriano (*S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli*)

La comparación entre las especies bacterianas *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* presentaron diferencias dependiente de la especie significativas ($F_{(0.05, 3, 60)} = 226.9775$, $P < 0.0001$) (Tabla 18). El cálculo en la comparación entre grupos se realizó mediante la prueba de Tukey-Kramer mostró que *E. faecalis*, *S. aureus* y *E. coli* presentan una mejor respuesta a la disminución en el crecimiento bacteriano con relación a *K. pneumoniae*. El efecto de la disminución en el crecimiento bacteriano causado por los tratamientos sobre las especies bacterianas se observa en el siguiente orden: *E. faecalis* > *S. aureus* > *E. coli* > *K. pneumoniae* (Gráfica 10).

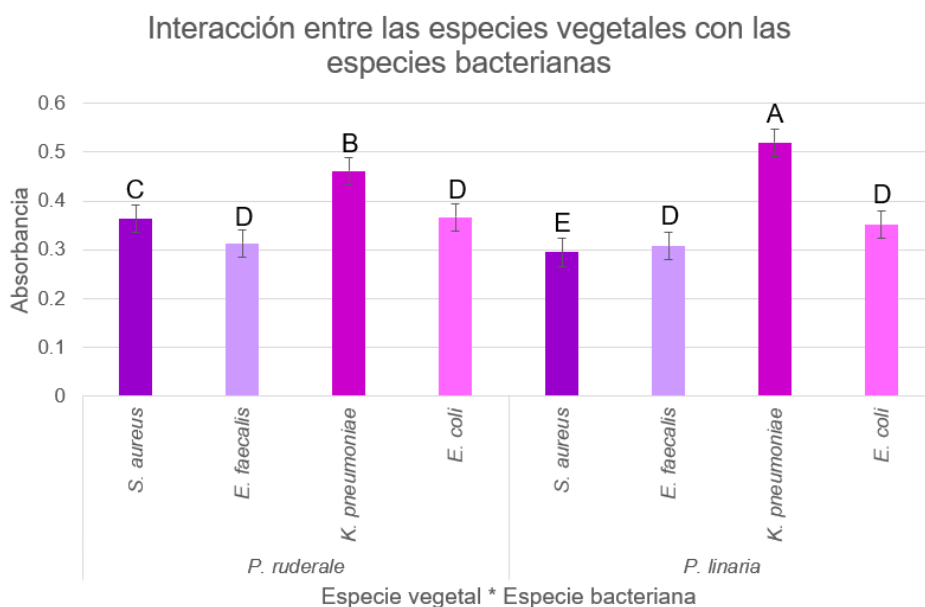


Gráfica 10. Comparación de la absorbancia (que indica indirectamente el número de bacterias) entre las distintas especies bacterianas *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli*. Letras diferentes muestran las diferencias significativas por la prueba de Tukey-Kramer.

Efecto de la interacción entre la especie vegetal: *P. ruderale* y *P. linaria* y la especie bacteriana: *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli*

La interacción entre las especies: *P. ruderale* y *P. linaria* con las especies bacterianas: *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* presentaron diferencias significativas ($F_{(0.05, 3, 60)} = 60.2121$, $P < 0.0001$) (Tabla 18). *Staphylococcus aureus*

y *Klebsiella pneumoniae* muestran efectos distintos según la especie vegetal, el extracto de *P. linaria* muestra una mayor reducción sobre *S. aureus* con relación al extracto de *P. ruderale*; en contraste el extracto de *P. ruderale* tuvo mayor reducción sobre el crecimiento de *K. pneumoniae* con respecto al extracto de *P. linaria*. Las especies bacterianas *E. faecalis* y *E. coli* muestran diferencias indistinguibles debido a la especie vegetal (Gráfica 11).

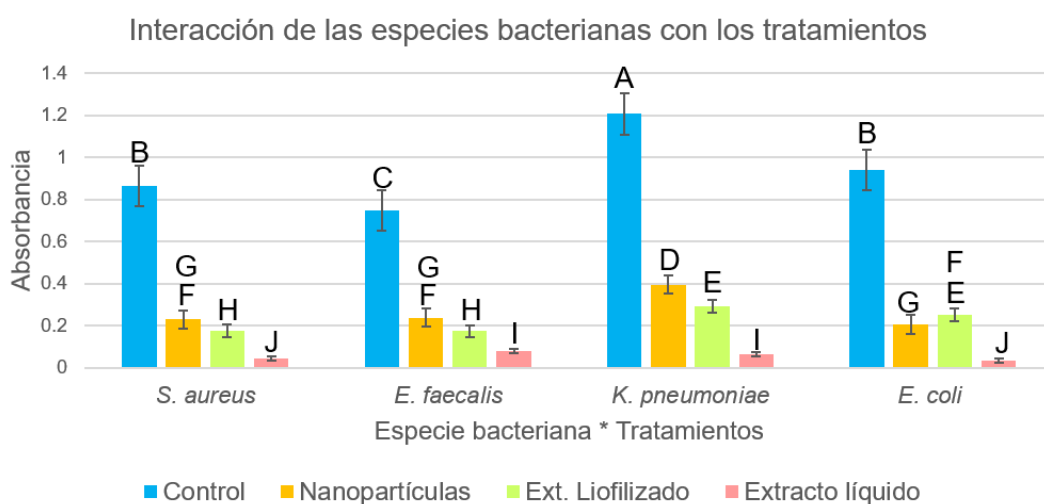


Gráfica 11. Interacción entre las especies vegetales *P. ruderale* y *P. linaria* con las especies bacterianas *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli*. Letras diferentes muestran las diferencias significativas por la prueba de Tukey-Kramer.

Interacción entre los tratamientos: control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido con las especies bacterianas: *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli*

La interacción entre los tratamientos: control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido con las especies bacterianas: *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* presentan diferencias estadísticamente significativas ($F_{(0.05, 9, 60)} = 50.8778$, $P < 0.0001$) (Tabla 18). La comparación entre grupos que se realizó mediante la prueba de Tukey-Kramer mostró que hay diferencias entre las distintas especies

bacterianas y al interior de cada uno de los tratamientos. Con respecto al grupo control, *E. faecalis* tuvo el menor crecimiento seguido de *S. aureus* y *E. coli*; *K. pneumoniae* presentó el mayor crecimiento. Con respecto al desempeño de las nanopartículas, *S. aureus*, *E. faecalis* y *E. coli* mostraron mayor disminución en el crecimiento (menor absorbancia) con relación a *K. pneumoniae*. El extracto liofilizado corroboró tener una mayor eficiencia sobre las especies *S. aureus* y *E. faecalis* con respecto a *K. pneumoniae* y *E. coli*. El extracto líquido mostró ser más eficiente en la reducción del crecimiento bacteriano con *S. aureus* y *E. coli* con respecto a *E. faecalis* y *K. pneumoniae* (Gráfica 12).



Gráfica 12. Interacción de las especies bacterianas: *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* con los tratamientos: control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido. Letras diferentes muestran las diferencias significativas por la prueba de Tukey-Kramer.

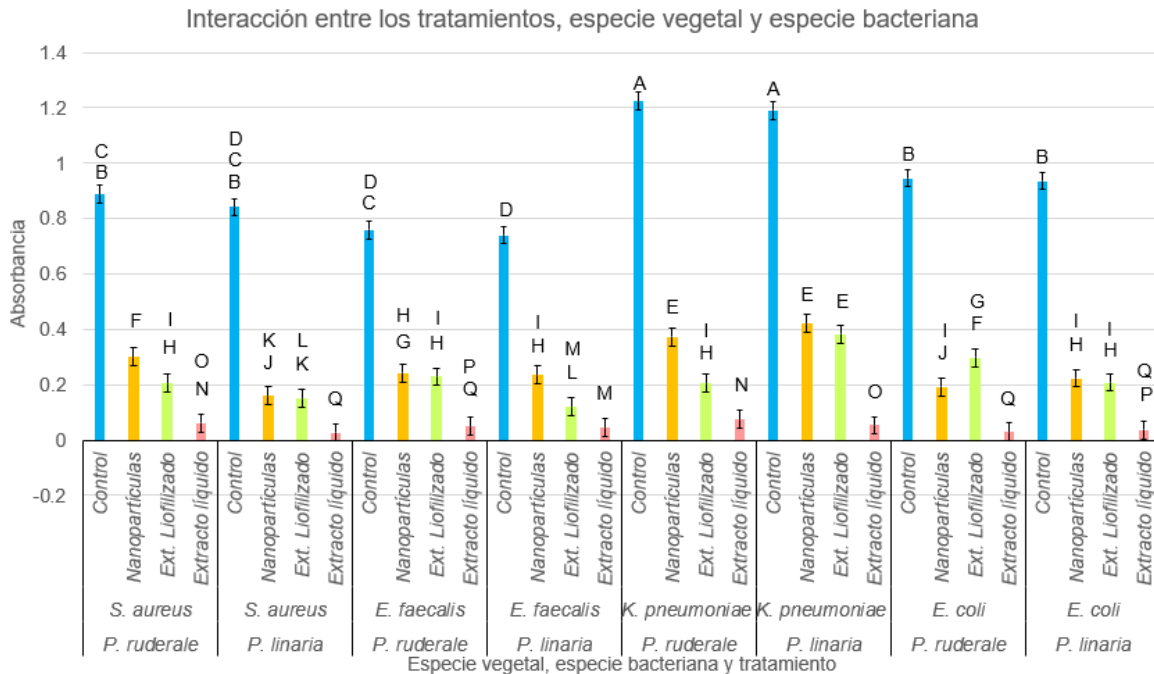
Interacción entre los tratamientos realizados, especies vegetales y especies bacterianas

La interacción entre los tratamientos: control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido con las especies vegetales: *P. ruderale* y *P. linaria* y las especies bacterianas: *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli*, presentó diferencias significativas ($F_{(0.05, 9, 60)} = 52.7156$, $P < 0.0001$) (Tabla 18), lo que significa que al

menos en algunas de las interacciones existen diferencias al interior de los tratamientos.

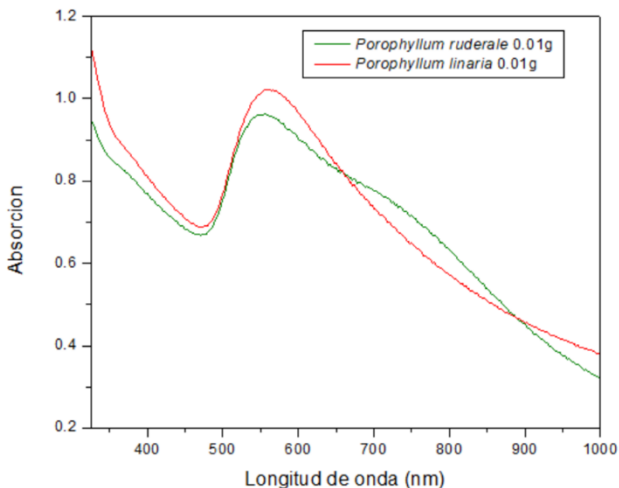
El tratamiento control mostró nuevamente una nula inhibición del crecimiento bacteriano en contraste con los tratamientos, extracto líquido, extracto liofilizado y nanopartículas que se refleja en una elevada absorbancia; este resultado es estadísticamente significativo por la prueba de Tukey-Kramer (Gráfica 13). Asimismo, el resultado de la prueba de Tukey-Kramer mostró que el extracto líquido fue el tratamiento que inhibió mayoritariamente a todas las especies bacterianas, seguido de extracto liofilizado y nanopartículas. Por tanto se confirma la actividad inhibitoria en el siguiente orden: extracto líquido > extracto liofilizado > nanopartículas > control.

Al analizar la interacción de los tres factores: especie vegetal × tratamiento × especie bacteriana, se observan efectos debido a la interacción: en *S. aureus* con la especie vegetal *P. linaria*, el promedio de la absorbancia (indicador de la inhibición del crecimiento bacteriano) es estadísticamente igual entre nanopartículas y extracto liofilizado. En el caso de *E. faecalis* en *P. ruderale*, también se detectan diferencias entre tratamientos dependiendo de las especies vegetales, el extracto líquido presentó mayor efectividad, sin embargo las nanopartículas y extracto liofilizado no muestran diferencias estadísticas. En el caso de *K. pneumoniae* con *P. ruderale* todos los tratamientos son estadísticamente significativos, no obstante para la misma especie bacteriana con *P. linaria*, las diferencias son indistinguibles entre extracto liofilizado y nanopartículas. Con respecto a *E. coli*, con *P. ruderale* las nanopartículas fueron más eficientes que el extracto liofilizado; a diferencia de los otros ensayos; *E. coli* con *P. linaria* conserva el siguiente orden: extracto líquido > extracto liofilizado = nanopartículas > control. Por lo tanto todo esto confirma que el efecto de los tratamientos depende de la especie bacteriana utilizada y de la especie vegetal de cual provienen los extractos o nanopartículas.

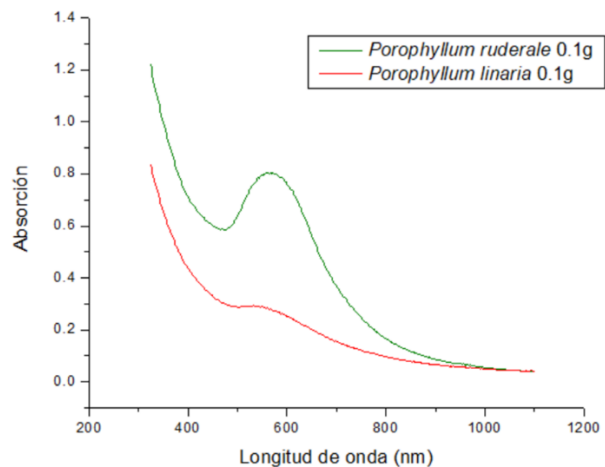


Gráfica 13. Interacción entre los tratamientos: control, nanopartículas, extracto liofilizado y extracto líquido x especie vegetal: *P. ruderale* y *P. linaria* x especie bacteriana: *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli*. Letras diferentes muestran las diferencias significativas por la prueba de Tukey-Kramer.

8.3.4 Síntesis de nanopartículas y caracterización por caracterización por espectroscopía UV-Vis



Gráfica 14. Rendimiento de nanopartículas de oro sintetizadas a partir de extracto *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass (línea verde) y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. (línea verde). A una temperatura de 95°C

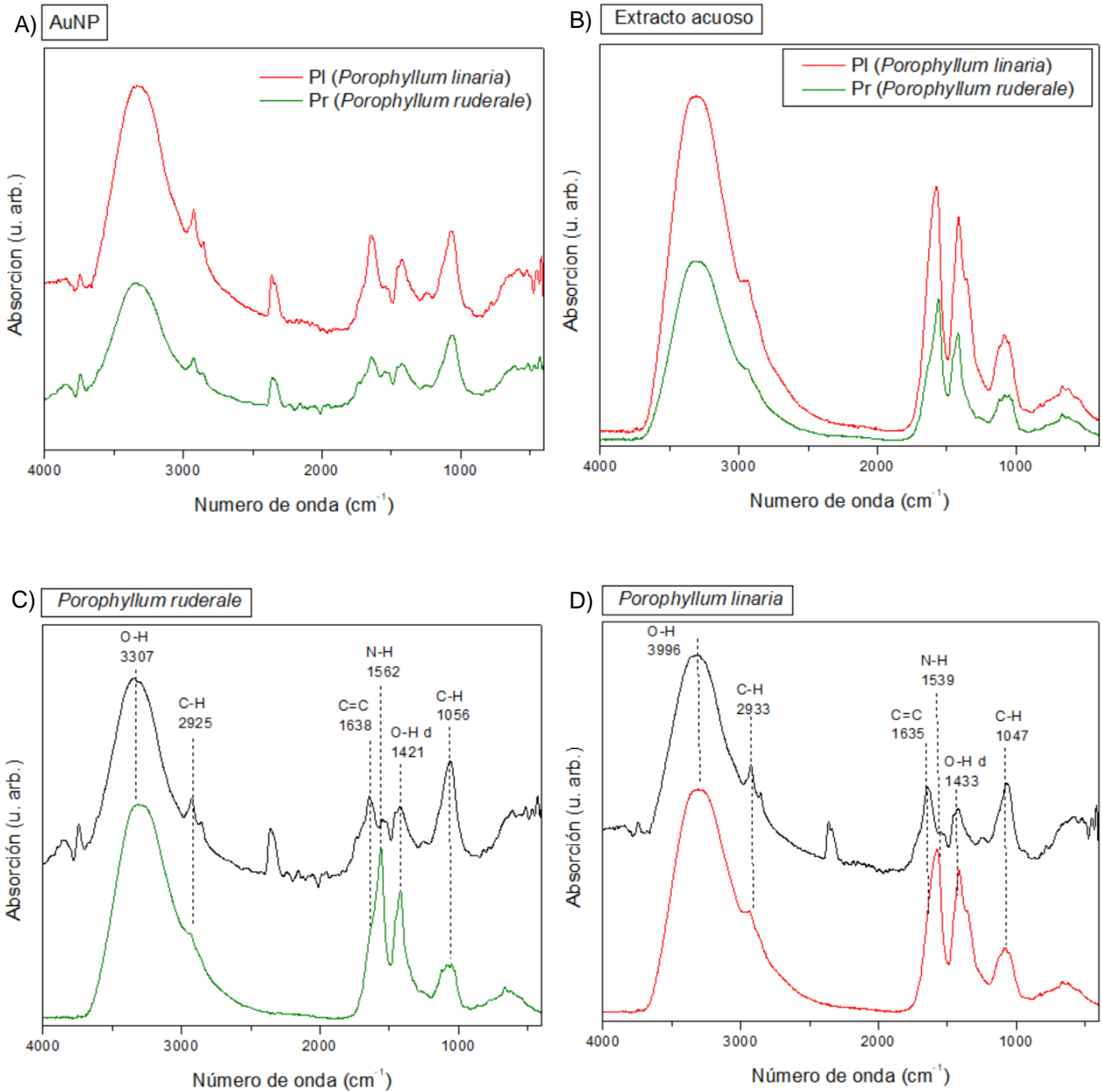


Gráfica 15. Rendimiento de nanopartículas de oro sintetizadas a partir de extracto *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass (línea verde) y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. (línea verde). A una temperatura de 95°C

Por cada extracto se liofilizaron 420ml del extracto acuoso, obteniendo 1.0404gr de *P. ruderale* y 1.056gr de *P. linaria*. El precursor se utilizó al 4% y el agente reductor, en este caso cada uno de los extractos, a una concentración de 50mg/ml. En la gráfica 14 se muestra el rendimiento obtenido en ambas síntesis, se observa que *P. ruderale* tuvo un pico de absorción de 554nm y *P. linaria* de 560nm. En la gráfica 15 las nanopartículas de *P. ruderale* tuvo un pico de absorción de 568nm y *P. linaria* de 558nm.

Caracterización por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Las muestras de los extractos y las nanopartículas sintetizadas se caracterizaron por FTIR, los resultados mostraron que los grupos funcionales presentes en los metabolitos secundarios se adhirieron a las nanopartículas, en el conjunto de gráficas siguientes se observa los FTIR, en A) se muestra la longitud de onda de las nanopartículas recubiertas por los extractos, en B) se muestran los extractos de ambas especies, en C) se indica la longitud de onda de la síntesis de nanopartículas de *P. ruderale* y el extracto y D) se presenta la longitud de onda de la síntesis de nanopartículas de *P. linaria* y el extracto (Gráfica 16). Con este análisis se aseguró que los compuestos químicos de los extractos están presentes en las nanopartículas y los grupos funcionales son los mismos para ambas especies de plantas. El pico más alto es agua ligada a las moléculas. En la tabla 19 se muestran los compuestos que se encuentran tanto en las nanopartículas como en los extractos.



Gráfica 16. A) FTIR AuNPs de *P. ruderale* y *P. linaria* B) FTIR Extractos de *P. ruderale* y *P. linaria*
 C) FTIR AuNPs y extracto de *P. ruderale* D) FTIR AuNPs y extracto de *P. linaria*

Tabla 19. Tabla de frecuencias de los grupos funcionales presentes en *P. ruderale* y *P. linaria*

<i>P. ruderale</i>		
Frecuencia FTIR (cm ⁻¹)	Grupo funcional	
3307	O-H	Alcoholes
2925	C-H	Alcanos
1638	C=C	Alquenos

1562	N-H	Aminas
1421	O-H d	Ácidos carboxílicos
1056	C-H	Alcoholes
<i>P. linaria</i>		
3996	O-H	Alcoholes
2933	C-H	Alcanos
1635	C=C	Alquenos
1539	N-H	Aminas
1433	O-H d	Ácidos carboxílicos
1047	C-H	Alcoholes

8.4 Actividad antioxidante

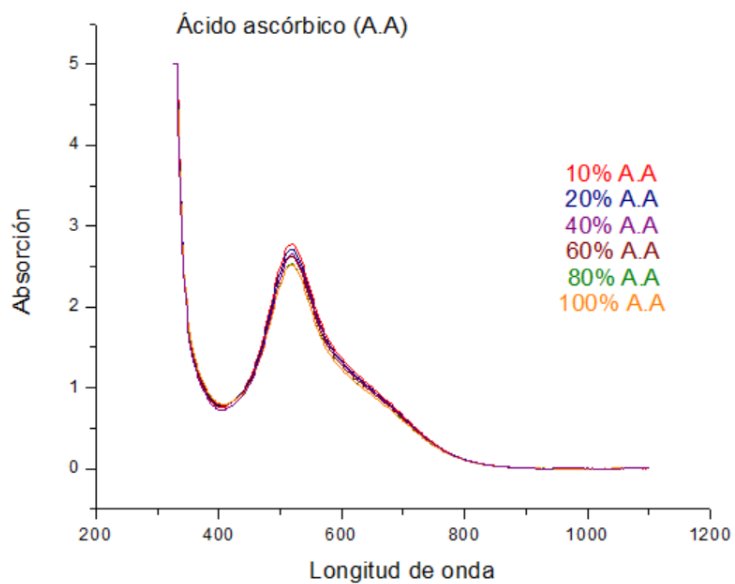
8.4.1 DPPH técnica 1

Se midió la actividad antioxidante usando el método DPPH. Los resultados se expresaron como % de actividad de captación de radicales libres.

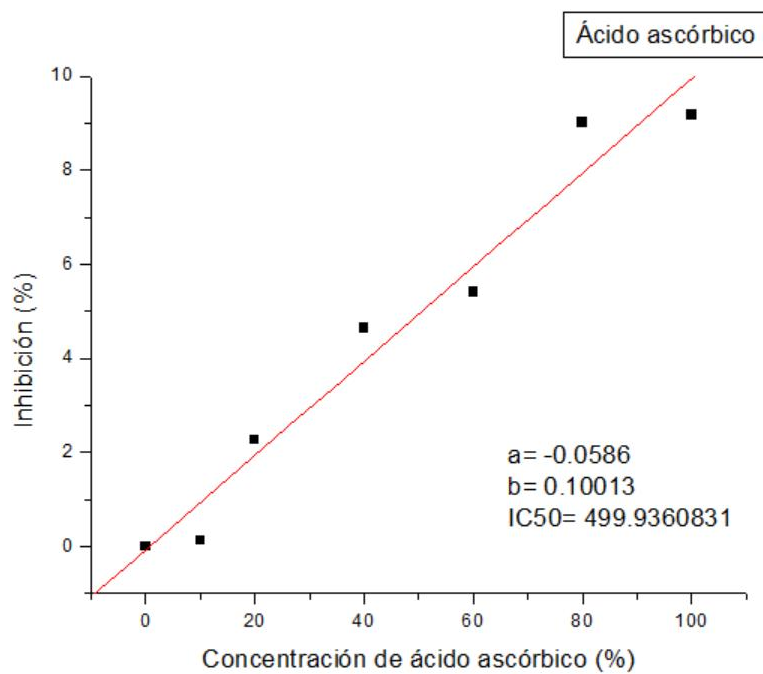
Ácido ascórbico

Tabla 20. % de Inhibición de Ácido ascórbico

Concentración extracto (%)	Absorbancia	Inhibición (%)
0	2.78	0
10	2.77638	0.13
20	2.71693	2.27
40	2.65114	4.64
60	2.62972	5.41
80	2.52956	9.01
100	2.52498	9.17



Gráfica 17. Reducción del DPPH con diferentes % de concentración de ácido ascórbico

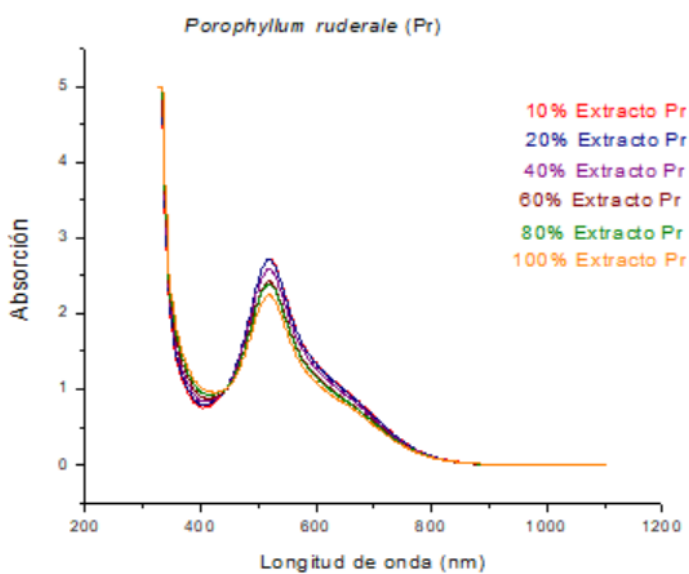


Gráfica 18. Modelo matemático para la obtención de la IC50

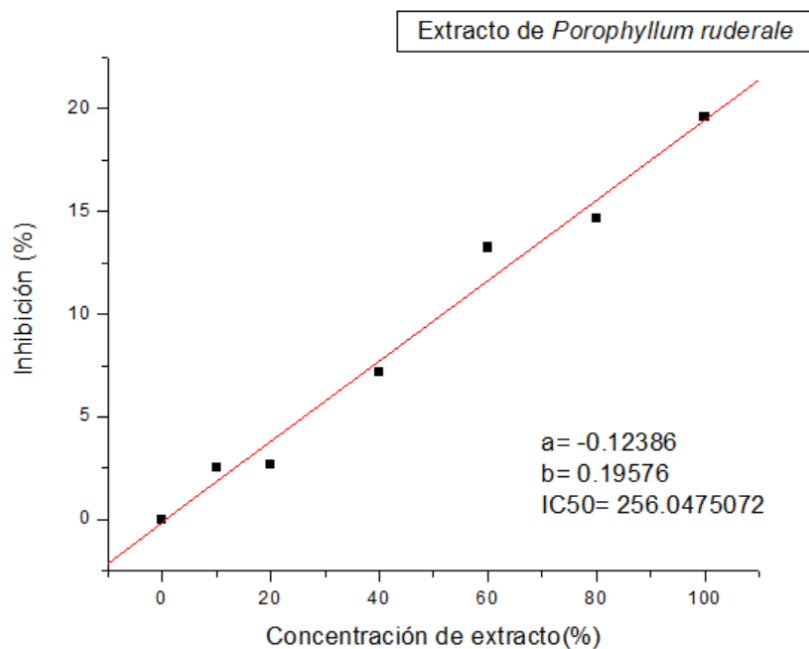
***Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass**

Tabla 21. % de Inhibición de *P. ruderale*

Concentración extracto (%)	Absorbancia	Inhibición (%)
0	2.79	0
10	2.71968	2.52
20	2.71521	2.68
40	2.58941	7.19
60	2.42122	13.22
80	2.38169	14.63
100	2.24364	19.58



Gráfica 19. Reducción del DPPH con diferentes % de concentración del extracto de *P. ruderale*

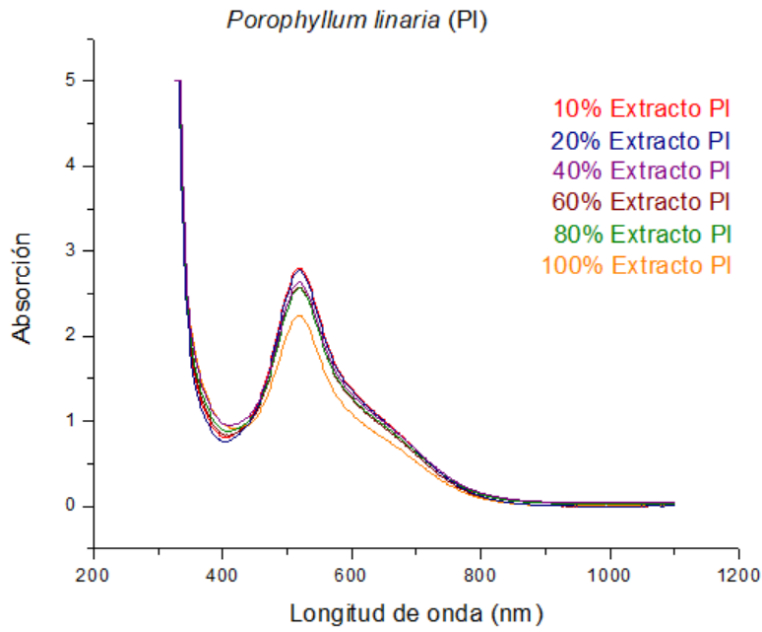


Gráfica 120. Modelo matemático para la obtención de la IC50

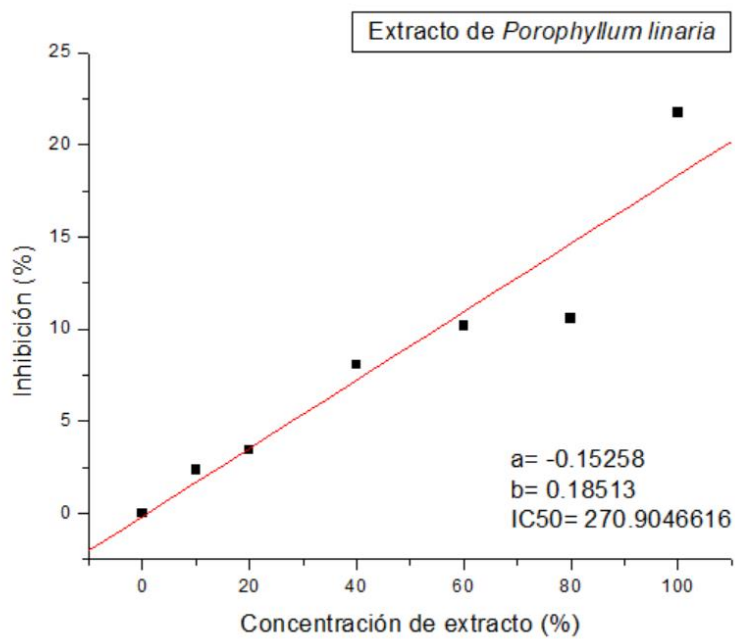
***Porophyllum linaria* (Cav.) DC.**

Tabla 22. % de Inhibición de *P. linaria*

Concentración extracto (%)	Absorbancia	Inhibición (%)
0	2.87	0
10	2.80255	2.35
20	2.77175	3.42
40	2.63835	8.07
60	2.57777	10.18
80	2.56688	10.56
100	2.24621	21.73



Gráfica 21. Reducción del DPPH con diferentes % de concentración del extracto de *P. linaria*

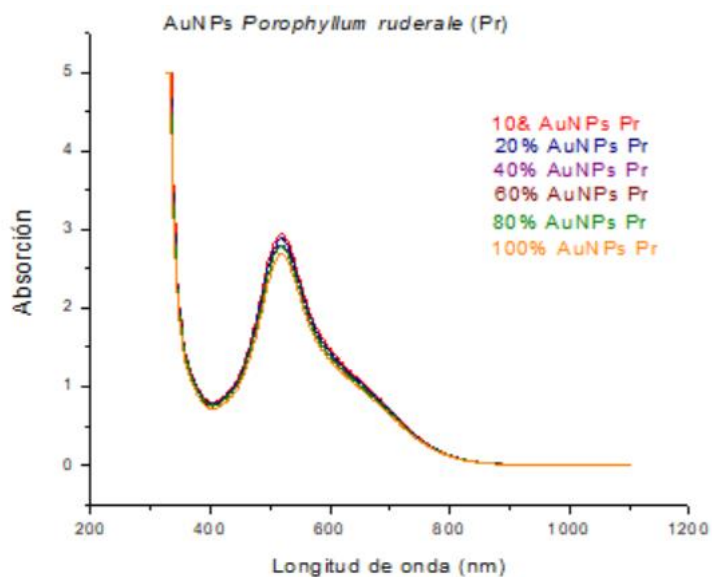


Gráfica 22. Modelo matemático para la obtención de la IC50

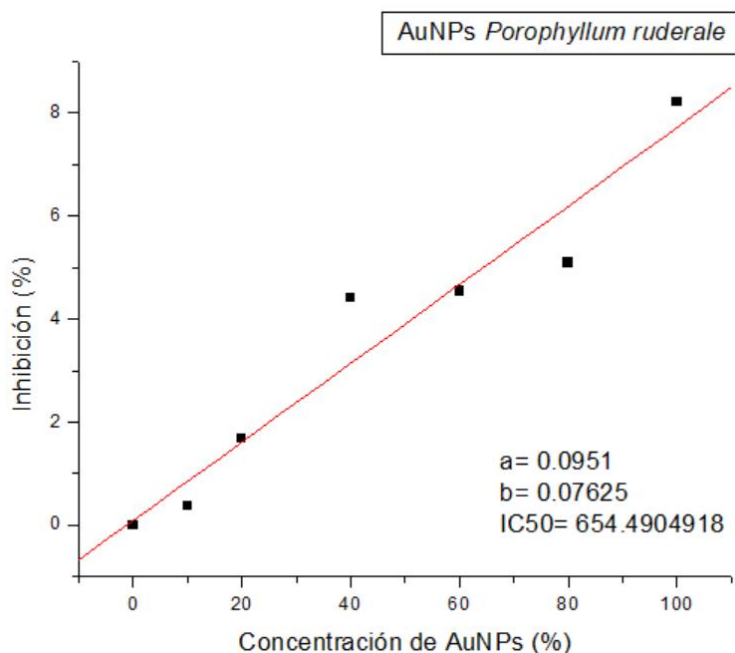
***Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass AuNPs**

Tabla 23. % de Inhibición de *P. ruderale* AuNPs

Concentración extracto (%)	Absorbancia	Inhibición (%)
0	2.93	0
10	2.94077	0.37
20	2.88054	1.69
40	2.80104	4.40
60	2.79691	4.54
80	2.78082	5.09
100	2.68936	8.21



Gráfica 23. Reducción del DPPH con diferentes % de concentración de *P. ruderale* AuNPs

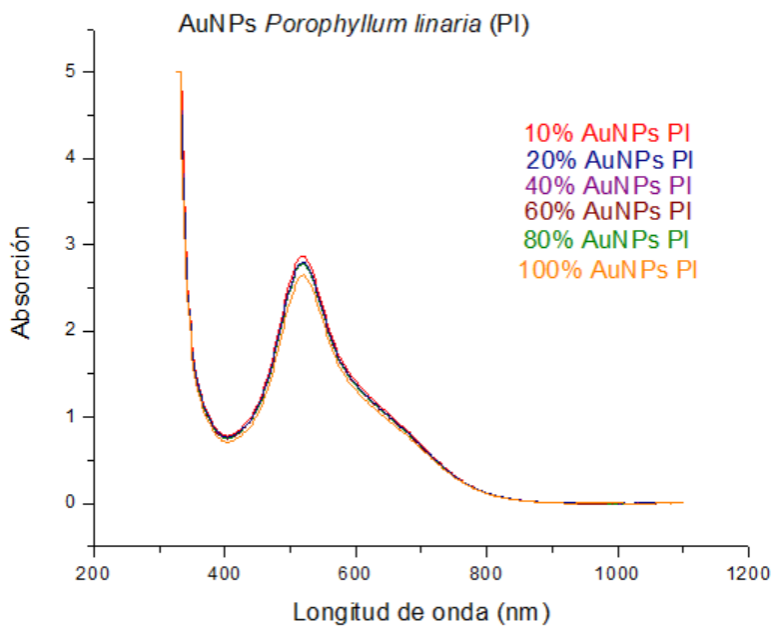


Gráfica 24. Modelo matemático para la obtención de la IC50

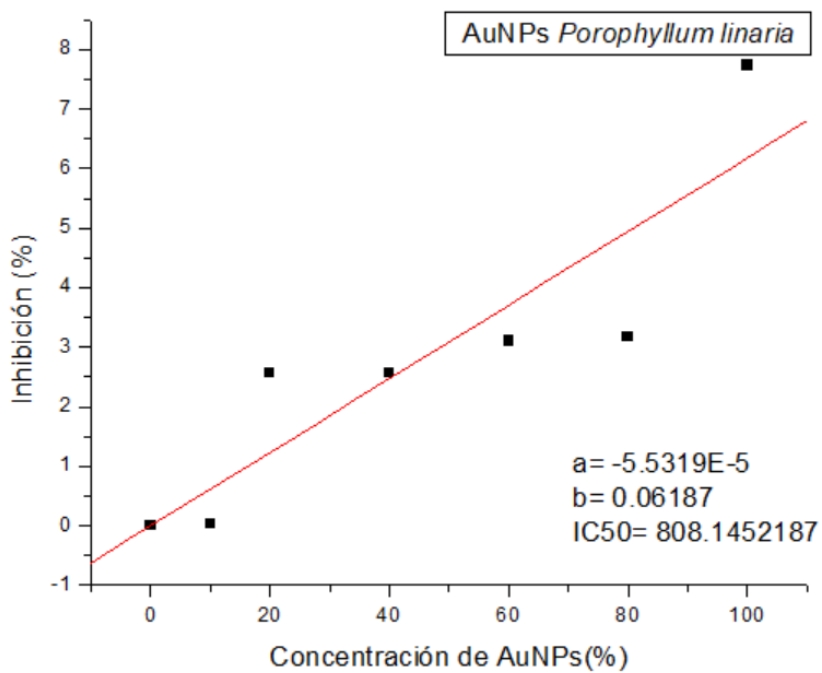
***Porophyllum linaria* (Cav.) DC. AuNPs**

Tabla 24. % de Inhibición de *P. linaria* AuNPs

Concentración extracto (%)	Absorbancia	Inhibición (%)
0	2.87	0
10	2.86774	0.04
20	2.79526	2.57
40	2.79509	2.57
60	2.77989	3.10
80	2.77798	3.17
100	2.64707	7.73



Gráfica 25. Reducción del DPPH con diferentes % de concentración de *P. linaria* AuNPs



Gráfica 26. Modelo matemático para la obtención de la IC50

Tabla 25. IC50. Concentración de extracto que tiene el 50% de actividad antioxidante

Extracto	A	B	IC50 (µg/ml de A.A)
Ácido ascórbico	-0.12386	0.19576	256.0475072
<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass	-0.15258	0.18513	270.9046616
<i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.	0.0951	0.07625	654.4904918
<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass AuNPs	-5.5319E-5	0.06187	808.1452187
<i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC. AuNPs	-0.0586	0.10013	499.9360831

El extracto de *P.ruderale* mostró una concentración de 270 µg/ml, fue el segundo más bajo y su capacidad antioxidante fue mayor que el extracto de *P. linaria* con 654 µg/ml. En cuanto las nanopartículas, su capacidad antioxidante fue menor ya que no reducen al DPPH, *Porophyllum ruderale* AuNPs tuvo la concentración más alta con 808 µg/ml.

8.4.2 DPPH ELISA técnica 2

Se realizó el DPPH mediante otra metodología. *Porophyllum ruderale* tuvo un % de inhibición de 35% con un IC50 de 113 µg/ml mientras que *Porophyllum linaria* de 42% y un IC50 de 98 µg/ml lo que quiere decir que en esta ocasión la actividad antioxidante fue mayor en *P. linaria*, lo cual puede deberse al tiempo de cada uno de los extractos, la primera prueba fue realizada con extractos hechos 6 meses antes y la prueba DPPH ELISA con extractos hechos 5 días antes (Tabla 26).

Tabla 26. DPPH 492 nm

Prueba DPPH 492 nm					
Extracto	Repeticiones			% de inhibición	IC50
	1	2	3		
DPPH	0.839	0.852	0.857	0%	
<i>P. ruderale</i>	0.39	0.383	0.482	35.67 %	113.038
<i>P. linaria</i>	0.35	0.349	0.371	42.93%	98.763

8.4.3 Contenido fenólico total

Se evaluó el contenido fenólico total de ambas especies *P. linaria* tuvo un contenido fenólico total de 0.32 mg de ácido gálico y *P. ruderale* 0.27 mg de ácido gálico (Tabla 27).

Tabla 27. Prueba contenido fenólico total 760 nm

Prueba contenido fenólico total 760 nm				
	Repeticiones			Intervalo de la curva: 0.2-0.02 mg/ml mg/ml de ácido gálico
Extracto	1	2	3	
<i>P. linaria</i>	1.488	1.407	1.466	0.329723459
<i>P. ruderale</i>	1.361	1.116	1.27	0.27991531
Control	0.747	0.813	0.722	0.16107339

8.4.4 Contenido de flavonoides totales

Otro factor que influye en la actividad antioxidante de las especies vegetales son los flavonoides. *P. linaria* tuvo 0.04 mg de quercetina y *P. ruderale* 0.01 mg de quercetina (Tabla 28).

Tabla 28. Prueba contenido flavonoides totales 510 nm

Prueba contenido de flavonoides totales 510 nm				
	Repeticiones			Intervalo de la curva: 0.1-0.01 mg/ml de quercetina
Extracto	1	2	3	
<i>P. linaria</i>	0.465	0.331	0.28	0.04287894
<i>P. ruderale</i>	0.129	0.113	0.122	0.00893053
Control	0.013	0.072	0.031	-0.002894197

8.4.5 FRAP (poder antioxidante reductor del ion férrico)

El ensayo FRAP el aumento de la absorbancia es una mayor potencia reductora, por lo que *P. linaria* tuvo la mayor capacidad en reducir el ion férrico (Tabla 29).

Tabla 29. Prueba FRAP 593 nm

Prueba FRAP 593 nm				
	Repeticiones			Intervalo de la curva: 0.1-0.01 mg/ml de quercetina
Extracto	1	2	3	
<i>P. linaria</i>	2.098	2.153	2.07	0.128896297

<i>P. ruderale</i>	2.056	2.058	2.065	0.126078501
Control	2.115	2.124	2.115	0.129551137

9. Discusión

En esta investigación se analizaron los efectos que tuvieron los extractos de hojas de *P. ruderale* y *P. linaria* sobre la inhibición del crecimiento de bacterias Gram positivas, *S. aureus* y *E. faecalis* y Gram negativas, *K. pneumoniae* y *E. coli*. La diferencia que se reporta entre un extracto acuoso y un aceite esencial se asocia con el método de extracción, debido a que el extracto se obtiene por maceración y el aceite por destilación. En cuanto a las pruebas fitoquímicas, en la literatura se reporta que la mayoría de los compuestos químicos de las especies de *Porophyllum* son terpenos. Rondón y colaboradores analizaron los componentes químicos por cromatografía de gases, reportando que uno de los componentes principales fue limoneno y feladreno, ambos pertenecen al grupo de los terpenos. Cruz y colaboradores trabajaron con el extracto etanólico de *P. ruderale* y sus datos coinciden con lo que se encontró en este estudio, el perfil fitoquímico muestra la presencia de saponinas y flavonoides. En el mismo estudio de Rondón probaron el aceite esencial de *P. ruderale* frente a bacterias Gram positivas y negativas encontrando una alta actividad antimicrobiana; en comparación con este trabajo *P. ruderale* también tuvo actividad antimicrobiana mostrando que inhibe a las cuatro especies bacterianas al igual que *P. linaria* tanto en su condición fresca, seca, en extracto liofilizado y en forma de nanopartículas. Se sabe que esta actividad antimicrobiana se debe a los metabolitos secundarios que contienen ambas especies de plantas, por ejemplo, los alcaloides, los cuales inhiben los ácidos nucleicos y pueden provocar la ruptura de la membrana de las bacterias (Othman *et al.*, 2019). Los terpenos además juegan un papel importante en las plantas, ya que funcionan como defensa, en cuanto a su actividad antibacteriana se debe a que alteran la capa lipídica causando un cambio en la permeabilidad de la membrana plasmática, pero también se ha reportado en otros géneros de especies que tienen actividad antimicrobiana, lo que sustenta a este estudio, en donde se analizaron por pruebas colorimétricas que también contenían terpenos entre otros metabolitos

secundarios. Igualmente, Cruz *et al.*, 2013 trabajó con el extracto etanólico de *P. ruderale* y sus datos coinciden con lo que se encontró en este estudio, el perfil fitoquímico muestra que hay presencia de saponinas y flavonoides, lo cual coincide nuestros resultados en las pruebas que se muestran en el apartado de resultados. Una especie del mismo género es *Porophyllum lanceolatum* estudiada por Mattanna *et al.*, 2012, mostró una alta actividad antimicrobiana contra especies bacterianas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Las estructuras químicas de los metabolitos secundarios que contienen dos o más triples enlaces, tienden a ser alifáticas o cíclicas lo que les confiere esa actividad antimicrobiana. Otra especie estudiada por Postigo *et al.*, 2017 es *Porophyllum obscurum* reporta que tiene actividad antifúngica debido a un componente llamado tiofeno, que es un hidrocarburo aromático. Rodríguez y colaboradores en el 2017, trabajaron con extractos de plantas de *Bauhinia* sp, *Sambucus nigra*, *Eichhornia crassipes* y *Taraxacum officinale*, las probaron con *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* con presencia de KPC (productora de carbapenemasa) *Providencia rettgeri* con presencia de BLEE *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* β - lisina y *Candida albicans*. El extracto más efectivo frente a todas las bacterias fue el de *T. officinale*. En este mismo estudio encontraron la presencia de flavonoides, terpenos, saponinas, fenoles, quinonas y alcaloides. La actividad antimicrobiana de los flavonoides puede deberse a su habilidad para formar interacciones proteicas con proteínas intracelulares y por la formación de complejos con las paredes celulares bacterianas que involucra la lisis celular. El análisis fitoquímico de las especies vegetales trabajadas en este estudio también tiene estos mismos metabolitos secundarios en sus hojas por que se le podría atribuir a estos la actividad antimicrobiana. Chlif y colaboradores en el 2022, evaluaron la actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto de diferentes partes de *Brocchia Cinerea* Vis, frente a *S. aureus*, *E. coli*, *S. faecalis* y *K. pneumoniae*. Sus resultados muestran que cada uno de los extractos tiene una potente actividad antibacteriana frente a las bacterias gram positivas *S. aureus*, incluso fue mayor que el control con antibiótico, sin embargo, respecto a las bacterias gram negativas *K. pneumoniae* y *E. coli* el

extracto fue moderadamente sensible, lo que coincide con este trabajo, ya que tanto el extracto de *P. ruderale* como el de *P. linaria* inhibió a las bacterias antes mencionadas pero no como sucedió con las bacterias gram positivas, esto puede deberse a la estructura de sus paredes celulares y otros estudios han reportado que las bacterias gram negativas son más resistente a los agentes antibacterianos.

Por otro lado, los metabolitos secundarios que contienen las plantas son los que se adhieren a la superficie de la nanopartícula para funcionar como agentes reductores y estabilizantes, en este trabajo los compuestos de *P. ruderale* y *P. linaria* fueron eficientes para la síntesis de nanopartículas (Napoleão *et al.*, 2016). Por medio del análisis FTIR se observó que están presentes diversos grupos funcionales como hidroxilos y carboxilos, que son los principales agentes reductores y estabilizantes en la síntesis de nanopartículas; además de que también se encuentran en los metabolitos secundarios de las especies en estudio (Nadhirah *et al.*, 2018). Morejón *et al.*, 2018 trabajaron con nanopartículas de plata coloidal recubiertas con *Ambrosia arborescens*; esta es una especie que pertenece al mismo género que las especies analizadas en este estudio, ellos evaluaron la actividad larvicida a las 24H, mostrando que estas nanopartículas fueron más tóxicas que el extracto solo. Sin embargo, estas nanopartículas son tóxicas porque pueden provocar efectos secundarios graves en la salud humana, por ejemplo, generando especies reactivas de oxígeno, causando apoptosis celular, daño al ADN, resultando en aberraciones cromosómicas (Coutiño *et al.*, 2017, Ávalos *et al.*, 2013). En este estudio también se mostró la actividad antimicrobiana de las nanopartículas sintetizadas, observándose que hay inhibición en el crecimiento de las especies bacterianas probadas, pero no como la esperada, las nanopartículas perdían estabilidad y se aglomeraban, recordemos que para que una nanopartícula sea eficiente debe de estar dispersa de manera homogénea, en cambio si eso no es así puede deberse a las fuerzas de tipo Van de Waals, estas se generan por la interacción y grado de afinidad que tienen las nanopartículas. Existe una fuerza de atracción que, si es mayor a la de repulsión, las partículas chocarán hasta irse agregando y después de un tiempo ya no serán estables (Yu *et al.*, 2012). Para evitar la aglomeración existen agentes estabilizantes como lo es el Citrato, el PVP (polivinilpirrolidona), CTAB

(Bromuro de hexadeciltrimetilamonio), entre otros (Kang *et al.*, 2019). Sin embargo, en el presente trabajo se analizaron 3 temperaturas diferentes, 80°C, 93°C y 95°C y dos técnicas de síntesis de nanopartículas. La diferencia entre las dos técnicas se encuentra en el momento de agregar el agente precursor y el agente reductor, también la temperatura es un factor importante para lograr la reducción de los iones Au. Con la temperatura de 93°C y la segunda técnica (ver metodología), hubo una mejora en la actividad antimicrobiana, esto se puede deber a la forma y tamaño de la nanopartícula; en el rango de longitud de onda de 515nm a 572nm, se sabe que pueden ser nanoesferas, las cuales tienen interacciones con el ácido teicoico. El tamaño es otro factor importante para la actividad antimicrobiana, dimensiones más pequeñas tienen una alta actividad contra diversas especies como *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. mutans*, *B. subtilis* y *E. coli* (Aljarba *et al.*, 2022). Las AuNPs pequeñas forman poros grandes irreversibles durante su translocación a través de la membrana celular bacteriana. Las AuNPs en el rango de 80 a 100nm no pueden translocarse libremente a través de la membrana celular bacteriana. Además, las nanopartículas esféricas exhiben una mayor acción bactericida debido a una fuerte afinidad interactiva, lo que resulta en un mayor estiramiento y ruptura de la membrana. Las AuNP no se translocan, solo provocan la tensión en la membrana (Linklater *et al.*, 2020). Zhaleh y colaboradores en el 2019 trabajaron con nanopartículas de oro sintetizadas con el extracto acuoso de *Gundelia tournefortii* L. parte de la familia Asteracea, evaluaron la actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *S. pneumoniae*, encontrando que las nanopartículas inhibieron más que los antibióticos control. Al igual que este autor en nuestro estudio el agente reductor pertenece a la misma familia que las especies vegetales, que también inhibieron a las especies de *S. aureus* y *E. coli*. Por otra parte, López y colaboradores en el 2019, trabajaron con otra especie vegetal de diferente familia, haciendo un extracto acuso, ellos evaluaron la actividad antimicrobiana contra *S. aureus* y *E. coli*, encontrando que la concentración de las AuNPs aumentó y fue proporcional a la concentración del extracto, resultando con efecto inhibitorio para las especies bacterianas que estudiaron. Este estudio coincide con Zhaleh en el 2019 y con nuestro estudio.

En cuanto a la actividad antioxidante Conde y colaboradores en el 2014, evaluaron la actividad antioxidante de *P. ruderale* con un método diferente ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico), encontrando valores superiores del 70% de actividad antioxidante ya que presentaron una alta cantidad de fenoles totales. Por otro lado, Jiménez y colaboradores en el 2012, evaluaron la capacidad antioxidante con el método de DPPH de *P. linaria*, mostrando un poder reductor muy alto, es decir una alta capacidad antioxidante. En comparación con nuestro estudio resultó ser *P. ruderale* la que presentó una capacidad antioxidante mayor que *P. linaria* en la técnica 1 de DPPH, sin embargo, con la técnica 2 DPPH ELISA *P. linaria* resultó tener la mayor actividad antioxidante teniendo un 42% de inhibición del radical DPPH, *P. ruderale* tuvo un 35% lo que coincide con Vázquez y colaboradores en el 2022, donde *P. ruderale* tuvo 32%, esto también coincide con otras pruebas que se realizaron, las cuales, fueron contenido fenólico total, contenido de flavonoides totales y FRAP, en cual también *P. linaria* superó a *P. ruderale* en estas actividades reportadas, esto puede deberse al tiempo que tuvieron los extractos, en la primera prueba los extractos tenían meses en hacerlos y en la segunda prueba eran recién hechos. También coincide con el alto contenido polifenólico y flavonoides de *Brocchia Cinerea* (Vis) con 72% de inhibición de los radicales libres en el extracto de las hojas al igual que Guenne y colaboradores en el 2012 evaluaron el contenido fenólico total y flavonoides totales de tres especies de la familia Asteraceae *Chrysanthellum americanum* (L.) Vatke, *Eclipta alba* (L.) Hassk y *Vernonia colorata* (Willd.) reportando un alto contenido polifenólico.

10. Conclusiones

- *P. ruderale* y *P. linaria* contienen diversos metabolitos secundarios que participan en la actividad antibacteriana y antioxidante.
- Los principales metabolitos secundarios que tuvieron ambas especies vegetales fueron terpenos, alcaloides, saponinas, flavonoides y fenoles.
- No hay diferencia significativa entre utilizar hojas frescas y secas en ambas especies vegetales.

- El extracto líquido combinado no mostró diferencias significativas en la inhibición del crecimiento bacteriano respecto a cada extracto solo.
- El mejor efecto inhibitorio se obtuvo con extracto líquido de hoja fresca de *P. ruderale* mientras que para *P. linaria* fue el extracto líquido de hoja seca.
- La condición utilizando 0.1g a 95°C extracto liofilizado de hoja seca resultó con un mejor efecto inhibitorio para ambas especies vegetales.
- El mejor tratamiento tanto para la síntesis de nanopartículas como para la inhibición del crecimiento bacteriano para ambas especies vegetales, fue con 0.1g a 93°C.
- El extracto líquido de *P. ruderale* inhibió principalmente a *E. coli* mientras que el extracto de *P. linaria* inhibió principalmente a *S. aureus*.
- El extracto liofilizado de *P. ruderale* inhibió principalmente a *S. aureus* y el de *P. linaria* a *E. faecalis*.
- Las nanopartículas de *P. ruderale* inhibieron principalmente a *E. coli* y las de *P. linaria* a *S. aureus*.
- En general mejor efecto inhibitorio se obtuvo con el tratamiento de extracto líquido de ambas especies vegetales.
- La especie *P. linaria* fue la que mejor inhibió el crecimiento bacteriano y tuvo una mejor eficiencia en la síntesis de nanopartículas.
- La mayor actividad antioxidante se obtuvo con la especie *P. linaria*.

Perspectivas

- Evaluar el efecto inhibitorio a partir de hoja seca.
- Analizar las condiciones para mantener estables las nanopartículas.
- Realizar microscopía electrónica de barrido para visualizar las condiciones de nanopartículas sintetizadas.
- Evaluar el efecto de las nanopartículas recubiertas con los extractos de *P. ruderale* y *P. linaria* en un modelo de ensayo *in vivo*.

11. Literatura citada

1. Aguayo A, Quezada M, Mella S, Riedel G, Opazo A, Bello H, Domínguez M, González G. Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. Rev Chilena Infectol. 2018; 35 (1): 7-14
2. Ahmaruzzaman M. Adsorption of phenolic compounds on low-cost adsorbents: A review. Advances in Colloid and Interface Science. 2008; 143: 48–67
3. Alaqad K, Saleh T. Gold and silver nanoparticles: synthesis methods, characterization routes and applications towards drugs. Environ Anal Toxicol. 2016; 6(4): 1-10
4. Aljarba N, Imtiaz S, Anwar N, Alanazi I, Alkahtani. Anticancer and microbial activities of gold nanoparticles: A mechanism review. Journal of King Saud University Science. 2022. 34: 1-14
5. Arrache G, Ronchi A, Machado G, Porto L, Lino G, Faria R, Eifler V. Natural and synthetic coumarins as antileishmanial agents: A review. European Journal of Medicinal Chemistry. 2020; 203: 11251
6. Arrázola G, Grané N, Martín M, Dicenta F. Determinación de los compuestos cianogénicos amigdalina y prunasina en semillas de almendras (*Prunus dulcis* L.) mediante cromatografía líquida de alta resolución. Rev. Colomb. Quim. 2013; 42(3): 23-30
7. Arredondo J, Echeguren A, Arzate P, Medina J. Susceptibilidad antimicrobiana de *Enterococcus faecalis* y *faecium* en un hospital de tercer nivel. Rev Latin Infect Pediatr. 2018; 31(2): 56-61
8. Ávalos A, Haza AI, Mateo D, Morales P. Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias. 2013; 7(2):1-23
9. Ávalos A, Pérez E. Metabolismo secundario en plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2009; 2(3): 119-145

10. Balcázar A, White C, Chávez C, Zepeda. Los quelites: riqueza de especies y conocimiento tradicional en la comunidad otomí de san pedro arriba, Temoaya, estado de México. *Polibotánica*. 2020; 49: 219-242
11. Bañuelos R, Delgadillo L, Echavarría F, Delgadillo O, Meza C. Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia*. 2018; 52: 309-321
12. Basurto F, Martínez M, Villalobos G. Los quelites de la sierra norte de Puebla, México: inventario y formas de preparación. *Bol. Soc. Bot. México*. 1998; 62: 49-62
13. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*. 2020; 25: 1-15
14. Beltrán A, Lavilla M, Cebollada R, Calderón J, Torres L. Resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en infecciones urinarias nosocomiales y adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Huesca 2016-2018. *Rev Clín Med Fam*. 2020; 13(3): 198-202
15. Benítez A, Villanueva J, Gonzáles G, Alcántar V, Puga R, Quintero A. Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia. Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *Tip Rev. Esp. Cienc. Quim. Biol*. 2020; 23:1-9
16. Biswas T, Dwivedi U. Plant triterpenoid saponins: biosynthesis, in vitro production, and pharmacological relevance. *Protoplasma*. 2019; 256: 1463- 1486
17. Bonilla G, Ríos M, Gómez F, Méndez M, Arcila L, Hernández A, Rojas M. Analysis by response surface methodology of gold nanoparticles obtained by green chemical reduction using aqueous coffee pulp extract (*Coffea arabica*). *Can. J. Chem*. 2021; 99: 519-530

18. Cabrera J, Casas A, Rojas M, Viveros J. Alimentos en la naturaleza. Algunas plantas comestibles, silvestres, arvenses y ruderales. Secretaría del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. 1998; 968-817-407-6
19. Canata M, Navarro R, Velázquez G, Rivelli S, Rodríguez F, Céspedes A, Espínola C, Canese J, Guillén R. Caracterización molecular de factores de virulencia de aislados *Escherichia coli* obtenidas de heces de niños con gastroenteritis del Hospital Central de Instituto de Previsión Social en el 2012. *Pediatr. (Asunción)*. 2016; 43(1); 13-17
20. Canet. *Escherichia Coli*: características, patogenicidad y prevención (I). Betelgeux. 2016.
21. Casillas N. Infecciones del tracto urinario. Access Medicina. 2022
22. Castro L, Bye R. A, Mera L. M. Diagnóstico del pápalo quelite, *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass (Jacq) Cass.var. macrocephalum (DC.) Cronq, México: SAGARPA, SNICS, SINAREFI. 2011; 20
23. Cercenado E. *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29 (5): 59-65
24. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab*. 2014; 61 (1): 28-40
25. Chandana S. *Escherichia coli*. *ENGINEERING & SCIENCE FOCUS*. 2015; 1-4
26. Chávez M, White L, Moctezuma S, Herrera F. Prácticas curativas y plantas medicinales: un acercamiento a la etnomedicina de San Nicolás, México. *Cuadernos Geográficos*. 2017; 56(2): 26-47
27. Chiochio I, Mandrone M, Tomasi P, Marincich L, Poli F. Plant Secondary Metabolites: An Opportunity for Circular Economy. *Molecules*. 2021; 26: 1-31
28. Chlif N, Diouri M, El Messaoudi N, Ed-Dra A, Filali F, Bentayeb A. Phytochemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Extracts from Different

- Parts of *Brocchia cinerea* (Vis.). Biointerface Research in Applied Chemistry. 2022; 12(4): 4432-4447
29. Conde L, Espinosa J, Guerrero J. Supercritical extraction of essential oils of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. The Journal of Supercritical Fluids. 2017; 127: 97-102
30. Conde L, Guerrero J. Total phenolics and antioxidant activity of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. Food Chemistry. 2014; 142: 455-460
31. Corral A, Morales Y, Abisaí L, Ramírez A, Martínez R, Muñoz J. Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de "Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo". Rev. Colomb. Biotecnol. 2012; 14(2): 147: 156
32. Correa S. N, Naranjo A. M, Herrera A. P. Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles using extracts of *Tamarindus indica* L leaves, J. Phys.: Conf. Ser. 2016; 687: 1-4
33. Corzo A. Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de H[AuCl₄], Rev Soc Quím Perú. 2012; 78: 79-90
34. Coutiño E, Ávila L, Arroyo O. Las nanopartículas de plata: mecanismos de entrada, toxicidad y estrés oxidativo. Revista de Educación Bioquímica (REB). 2017; 36(2):39-54
35. Cruz M, Souza V, Moraes D, Rodrigues G, Paula F. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro da solidago chilensis e porophyllum ruderale (arnica brasileira e arnica paulista). FOCO. 2013; 4(4): 55- 70
36. Daza R. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. 1998; 22(3): 57-67
37. Díaz M, Rodríguez C, Zhurbenko R. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. 2010; 48(2): 147-161

38. Dikshit P, Kumar J, Das A, Sadhu S, Sharma S, Singh S, Kumar P, Kim B. Green Synthesis of Metallic Nanoparticles: Applications and Limitations. *Catalysts*. 2021; 11(8), 902
39. Echeverri L, Cataño J. *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *Iatreia*. 2010; 23(3): 240-249
40. Estrada A. S, Ortiz E, Villaseñor J. L, Espinosa García F. J. The distribution of cultivated species of *Porophyllum* (Asteraceae) and their wild relatives under climate change, *Systematics and Biodiversity*. 2016; 0: 1-11.
41. Evans M, Davies J Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *International Endodontic Journal*. 2002; (35): 221–228
42. García de Alba J, Ramírez B, Robles G, Zañudo J, S alcedo A, García de Alba J. Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos*. 2012; 39: 29-44
43. García E, Fernandez I, Fuentes A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteau, Departamento de tecnología de alimentos. 2015
44. Garza R, Verde M, Morales M, Oranday A, Rivas C, Núñez M, Barrón M. Actividad amebicida, antioxidante y perfil fitoquímico de extractos metanólicos de *Astrophytum myriostigma* obtenidos de cultivo de callo y del cactus silvestre. *Polibotánica*. 2010: 30: 111-121
45. Garza U, Silva J, Martínez E. Genética y genómica enfocadas en el estudio de la resistencia bacteriana. *Salud pública de México*. 2009; 51(3): 439-445
46. Gastelo R, Maguiña C. Mecanismos de resistencia bacteriana. *DIAGNÓSTICO*. 2018; 52(2): 82-86
47. Giono S, Santos J, Morfín M, Torres F, Alcántar M. Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta Médica de México*. 2020;156

48. Gómez M. Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. *REPERT MED CIR*. 2018; 27(2):75-80
49. González L. De la ausencia temporal al abandono total Los sitios de los cazadores-recolectores del desierto del norte de México. *TRACE*. 2003; 43: 116-133
50. Gregorio K, Rivera J, Saade H, López R, Martínez J, Iliana A. Las nanopartículas magnéticas y sus múltiples aplicaciones, *CIQA repositorio*. 2012; 397-411
51. Güçlü Ö, Mazza G. Saponins: Properties, Applications and Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2007; 47(3): 231-258
52. Guenne S, Hilou A, Ouattara N, Nacoulma O. Anti-bacterial activity and phytochemical composition of extracts of three medicinal Asteraceae species from *Burkina faso*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2012; 5(2): 37-44
53. Guzmán S, Díaz R, González M. Plantas medicinales la realidad de una tradición ancestral. Instituto nacional de investigaciones. 2017; 1: 1-36
54. Harmange C, Thach D, Haelsig K, Maimone T. Syntheses of Complex Terpenes from Simple Polyprenyl Precursors. *Acc Chem Res*. 2020; 53(4): 949–961
55. Hernández C, Hercilla L, Mendo F, Pérez G, Contreras E, Ramírez E, Flores W, Julca A, Chuquiray N, Arenas B, Abarca S, Viñas M, Linares E, Villegas M, Illescas L. Programas de optimización del uso de antimicrobianos en Perú: Un acuerdo sobre lo fundamental. *Rev Chilena Infectol*. 2019; 36 (5): 565-575
56. Hernández J, Luna A, Loera E, Villanueva E, Landero N, Zárate B, Nava F, Granados C. Efficiency of the Essential Oil of *Porophyllum linaria* (Asteraceae) a Mexican Endemic Plant Against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Insect Science*. 2019; 1-9
57. Hoyos A, Rivera O, Hoyos C, Mesa C, Alfaro J. Características clínicas, epidemiológicas y de susceptibilidad a los antibióticos en casos de bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* en neonatos. *CES Medicina*. 2007; 21(2): 31-39

58. Jain C, Khatana S, Vijayvergia R. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2019; 10(2): 494- 504
59. Jiménez M, Guzmán A. P, Azuara E, García O, Mendoza M. R, Beristain C. I. Volatile Compounds and Antioxidative Activity of *Porophyllum tagetoides*. Extracts, *Plant Foods Hum Nutr*. 2012; 67:57-63.
60. Jong W, Borm P. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards, *International Journal of Nanomedicine*. 2008; 3: 133-149
61. Jordá A. Los compuestos fenólicos como antioxidantes naturales para superar situaciones de estrés abiótico. *Terralia*. 2015; 19(102): 44- 52
62. Juang Y, Liang P. Biological and Pharmacological Effects of Synthetic Saponins. *Molecules*. 2020; 25: 4974
63. Juárez Z, Hernández L, Bach H, Sánchez E, Bach H. Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens. *Industrial Crops and Products*. 2015; 74: 178-182
64. Kang H, Buchman J, Rodriguez R, Ring H, He J, Bantz K, Haynes C. Stabilization of Silver and Gold Nanoparticles: Preservation and Improvement of Plasmonic Functionalities. *Chem. Rev*. 2019;119: 664–699
65. Kasaian J, Mohammadi A. Biological activities of farnesiferol C: a review. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2018; 28 (1): 1-9
66. Kouassi S, Kouame A, Mamyrbékova A, Bekro Alain. Composition Chimique Et Activité Antimicrobienne De L'huile Essentielle De *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass (Jacq.) Cass. (Asterales; Asteraceae) Récoltée En Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*. 2020; 16(27): 268-276
67. Kumar D, Gaur S, Singh S, Singh S, Pandey R, Singh V, Prasad S, Dubey N, Chauhan D. An overview on manufactured nanoparticles in plants: Uptake,

- translocation, accumulation and phytotoxicity. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2016; 110: 2-12
68. Linklater D, Baulin V, Le X, Batiste J, Hanssen E, Hong T, Juodkazis S, Bryant G, Crawford R, Stoodley P, Ivanova E. Antibacterial action of nanoparticles by lethal stretching of bacterial cell membranes. *Adv Mater*. 2020; 2005679
69. López J, Echeverri L. *K. pneumoniae*: ¿la nueva “superbacteria”? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. *IATREIA*. 2010; 23(2): 157- 165
70. López J, Esparza R, Rosas G, Pérez R, Etévez M. Catalytic and antibacterial properties of gold nanoparticles synthesized by a green approach for bioremediation applications. *Biotech*. 2019; 9:1-9
71. Martínez A, Montes M, Alemañy J, Marrero I, Reyna R, Cedeño R. Resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el Hospital Dr. Gustavo Aldereguía Lima. *Medisur*. 2017; 15(2): 210-21
72. Mateos L, Chávez J, Minerva A, Aquino E, Jimenez J, Villagómez B. Edible Leafy Plants from Mexico as Sources of Antioxidant Compounds, and Their Nutritional, Nutraceutical and Antimicrobial Potential: A Review. *Antioxidants*. 2020; 9: 1-24
73. Mattana C, Satorres S, Alcaráz L, Petenatti E, Del Vito L, Petenatti M, Laciari A. Evaluation of The Antibacterial Properties of Extracts Obtained from Native *Porophyllum Lanceolatum* in San Luis, Argentina, *Pharmacology Online*. 2012; 3: 162-166.
74. Mattos J. P, Chen A. L, Foster A, Drezek R. In vivo biodistribution of nanoparticles, *Nanomedicine*. 2011; 6: 815-835.
75. Mercado G, De la rosa L, Wall A, López J, Álvarez E. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutr. Hosp*. 2013; 28(1): 23-46
76. Merchán J, Ortiz J. Mecanismos de resistencia en aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae*. *Revista de Investigación en Salud*. 2021; 4: 443 – 456

77. Morales G, Rojas M, Diaz J, Rosas F. Effect of Ethanol and Methanol on the Total Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.). *Sains Malaysiana*. 2020; 49(6):1283-1292
78. Morejón B, Pilaquina F, Domenech F, Ganchala D, Debut A, Neira M. Larvicidal Activity of Silver Nanoparticles Synthesized Using Extracts of *Ambrosia arborescens* (Asteraceae) to Control *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Journal of Nanotechnology*. 2018; 1-8
79. Moreno K. Carbapenémicos: tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica*. 2013; 70(608): 599 - 605
80. Mosquito S, Ruiz J, Bauer J, Ochoa T. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2011; 28(4): 648-56.
81. Muñetón P. Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos. Entrevista con el Dr. Erick Estrada Lugo. *Revista Digital Universitaria*. 2009; 10(9): 1-9
82. Muñoz Tapia J. L. La familia Asteraceae, Desde el Herbario CICY. 2010; 2: 82-84.
83. Nadhirah N, Afiqah N, Jai J, Hadi A. Plant Extract as Reducing Agent in Synthesis of Metallic Nanoparticles: A Review. *Advanced Materials Research*. 2014; 832: 350-355
84. Napoleão A, Alves A, Leal J, Estrada J, Lincopan N, Katti K, Benévolo A. Green Nanotechnology from Plant Extracts: Synthesis and Characterization of Gold Nanoparticles. *Advances in Nanoparticles*. 2016; 5: 176-185
85. Ocsoy I, Tasdemir D, Mazicioglu S, Tan W. Nanotechnology in Plants, *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2018; 164: 263-275
86. Ortega L. Enterococos: actualización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 2010; 9(4): 507-515

87. Ortiz S, López G, Victorino A, Marin L, Morales P, Carrasco A. *Loselia mexicana*: Antioxidant and antimicrobial properties by soxhlet differential. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences. 2023; 23(02): 115-120
88. Othman L, Sleiman A, Massih R. Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. Front. Microbiol. 2019; 10: 911
89. Pasachova J, Ramirez S, Munoz L. *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. NOVA. 2019; 17 (32): 25-38
90. Paz E, Zach R, Hazan S, Kolusheva S, Porat Z, Zeiri Y. Green synthesis of gold nanoparticles using plant extracts as reducing agents. International Journal of Nanomedicine. 2014; 9: 4007–4021
91. Peñaloza L, Aspiazu K. Mecanismos de resistencia de *Escherichia Coli* en América Latina. Revista de Investigación en Salud. 2021; 4(11): 203-216
92. Pérez I. El uso de las plantas medicinales, Revista Intercultural. 2008; 23-26.
93. Porte L, Hervé B, Prat S, Chanqueo L. *Enterococcus*. Rev Chil Infect. 2007; 24 (3): 231
94. Postigo A, Funes M, Petenatti E, Botti H, Pacciaroni A, Sortino M. Antifungal photosensitive activity of *Porophyllum obscurum* (Spreng.) DC.: Correlation of the chemical composition of the hexane extract with the bioactivity, Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2017; 20: 263-272.
95. Quiloan M, VU J, Carvalho J. *Enterococcus faecalis* can be distinguished from *Enterococcus faecium* via differential susceptibility to antibiotics and growth and fermentation characteristics on mannitol salt agar. Front. Biol. 2012; 7(2): 167–177
96. Raggi L, Young M. C. M, Cordeiro I, Moreno P. R. H. Differentiation of two *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass (Jacq.) Cass. subspecies by the essential oil composition, Journal of Essential Oil Research. 2014; 27: 30-33.

97. Rehman Z, Khan T, Khan M. A, Nadhman A. Synthesis in plants and plant extracts of silver nanoparticles with potent antimicrobial properties: current status and future prospects, *Appl Microbiol Biotechnol.* 2015; 99: 9923-9934.
98. Rodrigues D, Leporini N, Raggi L, Zara K, Young M. Influence of mineral nutrition on plant development and chemical composition of volatile oils of *Porophyllum ruderale (Jacq.) Cass (Jacq.) Cass* subspecies. *African Journal of Agricultural Research.* 2019; 14(34): 1870-1877
99. Rodríguez C, Zarate A, Sánchez L. Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. *NOVA.* 2017 15(27): 119-129
100. Rodríguez G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública de México.* 2002; 44(5): 464-475
101. Rondón M. E, Delgado J, Velasco J, Rojas J, Rojas L. B, Morales A, Carmona J. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from aerial parts of *Porophyllum ruderale (Jacq.) Cass (Jacq.) Cass*. collected in Venezuela, *Ciencia.* 2008; 16: 5-9.
102. Santiago Y, Hernández A, López C, Garrido J, Alatorre J, Monroy R. Importancia nutricional y actividad biológica de los compuestos bioactivos de quelites consumidos en México. *Rev Chil Nutr.* 2019; 46(5): 593-605
103. Segura D, Martínez M, Casas G, Martínez G, Guzmán E, Vázquez B. Anti-inflammatory and antinociceptive properties of the extracts from the leaves of *Porophyllum tagetoides* . and *Annona reticulata*. *Journal of Medicinal Plants Studies.* 2019; 7(1): 50-54
104. Sepúlveda G, Porta H, Rocha M. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de fitopatología.* 2003; 21 (3): 355-363
105. Shah M, Badwaik V, Kherde Y, Kumar H, Modi T, Aguilar Z, Rodgers H, Hamilton W, Marutharaj T, Webb C, Lawrenz M, Dakshinamurthy R. Gold



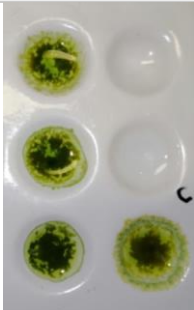
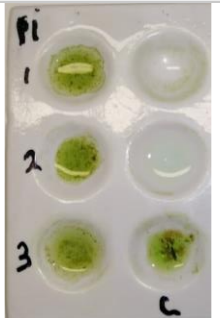
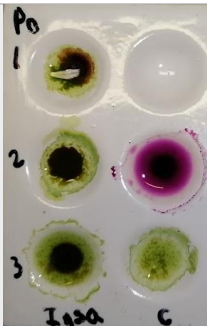
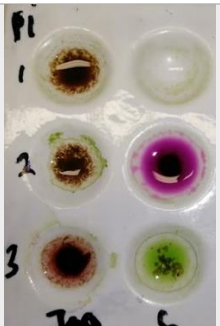
- nanoparticles: various methods of synthesis and antibacterial applications. *Frontiers in Bioscience*. 2014; 19: 1320-1344
106. SIAP. Pápalo. 2019
107. SIAP. Pipicha. 2019
108. Souza M, Siani A, Ramos M, Menezes O, Henriques O. Evaluation of anti-inflammatory activity of essential oils from two Asteraceae species. *Pharmazie*. 2003; 58(8): 582-586
109. Stasiuk M, Kozubek A. Biological activity of phenolic lipids. *Cell. Mol. Life Sci*. 2010; 67:841–860
110. Suárez B, Bustamante Y, Casares M, Romero M, González A, Martínez M. Caracterización de aislamientos intrahospitalarios de *Klebsiella pneumoniae* en un hospital terciario. *Revista Cubana de Medicina*. 2015; 54(4): 323-336
111. Takahashi H, Novello C, Ueda- Nakamura T, Dias B, Palazzo J, Vataru C. Thiophene Derivatives with antileishmanial activity isolated from aerial parts of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass (Jacq.) Cass, *Molecules*. 2011; 16: 3469-3478
112. Tártara S. Patógenos emergentes – tercera parte “*klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas (kpn- kpc)”. *Nefrología, Diálisis y Trasplante*. 2013; 33 (2): 103 – 109
113. Taylor T, Unakal C. *Staphylococcus aureus*. *StatPearls*. 2022; Consultado en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
114. Tetali S. Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. *Planta*. 2019; 249:1–8
115. Thomas A, Torres Tapia E, Ramírez A, Zehe A. Las nanopartículas – Nanomateriales de tantas aplicaciones asombrosas en nanomedicina y nanotecnología biomédica, *Internet Electronic Journal Nanociencia et Moletrónica*. 2015; 13: 2315-2326.




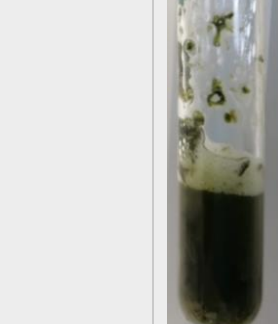



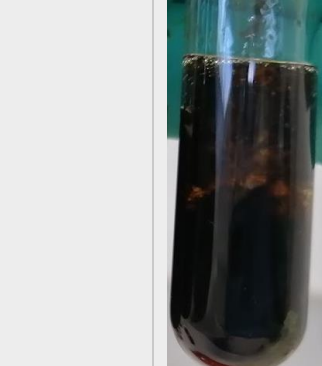
116. Troncoso C, Pavez M, Santos A, Salazar R, Barrientos L. Implicancias Estructurales y Fisiológicas de la Célula Bacteriana en los Mecanismos de Resistencia. *Int. J. Morphol.* 2017; 35(4): 1214-1223
117. Vázquez M, Bautista M, González M, Romero A, De la O M, Castañeda A, Sosa C, Ojeda D. Nephroprotective Activity of Papaloquelite (*Porophyllum ruderale*) in Thioacetamide-Induced Injury Model. *Plants* 2022, 11(24), 3460
118. Vázquez M. J, Bautista M, Velázquez C, Castañeda A, González M, Sosa C. G, Ojeda D. *Porophyllum* Genus Compounds and Pharmacological Activities: A Review, *Scientia Pharmaceutica.* 2021; 87: 7
119. Verde M, García S, Rivas C. Metodología científica para el estudio de plantas. *Investigación en plantas importancia médica.* 2016; 1-40
120. Villaseñor J. Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical Sciences.* 2018; 96 (2): 332-358
121. Yadav R, Agarwala M. Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology.* 2011; 3(12): 10-14
122. Yagui M. Resistencia antimicrobiana: nuevo enfoque y oportunidad. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2018; 35(1): 7-8
123. Zampini I, Cudmani N, Isla M. Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibiótico-resistentes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.* 2007; 41(3): 385- 393
124. Zendejas G, Ávalos H, Soto M. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomed.* 2014; 25: 129-143
125. Zhaleh M, Zangneh A, Goorani, Seydi N, Mahdi M, Tahvilian R, Pirabbasi E. In vitro and in vivo evaluation of cytotoxicity, antioxidant, antibacterial, antifungal and cutaneous wound healing properties of gold nanoparticles produced via a green chemistry synthesis using *Gundelia tournefortii* L. as a capping and reducing agent. *Appl Organometal Chem.* 2019; 53(9): 1-14





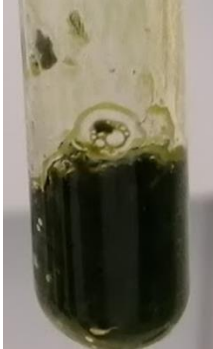


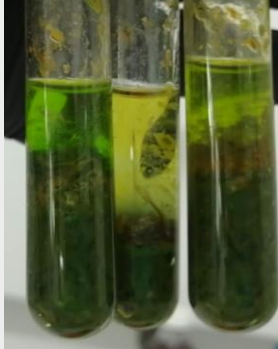
126. Zorrilla LE. "Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos obtenidos de la parte aérea y hojas de pipicha (*Porophyllumtagetoides*) deshidratada". [Tesis de grado]. Acatlán de Osorio. Puebla. Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio. 2021
127. Zurita M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador, An Fac med. 2016; 77: 327-332.


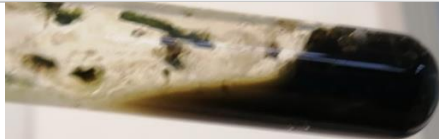


12. Anexos

Pruebas fitoquímicas





Prueba	<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass. (Jacq.) Cass.	<i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.
Alcaloides (Dragendorff)	 <p>Positivo +</p>	 <p>Positivo ++</p>
Fenoles	 <p>Positivo +</p>	 <p>Positivo ++</p>
Insaturaciones	 <p>Positivo +</p>	 <p>Positivo ++</p>


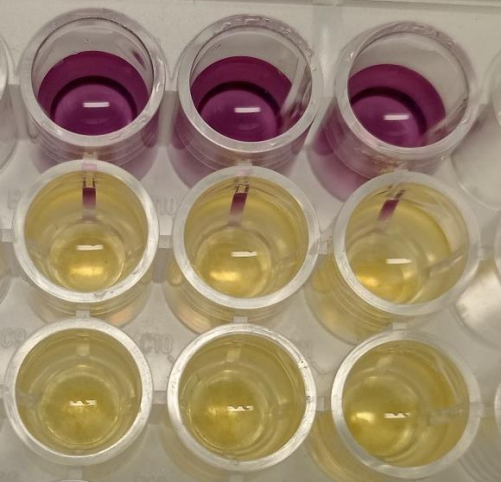
Sesquiterpenlactonas (Baljiet)	 <p>Positivo +</p>	 <p>Positivo +</p>
Esteroides y terpenos (Liebermann- Burchard)	 <p>Positivo +</p>	 <p>Positivo +</p>
Esteroides y terpenos (Salkowski)	 <p>Positivo ++</p>	 <p>Positivo ++</p>
Flavonoides	 <p>Positivo ++</p>	 <p>Positivo +</p>

<p>Lactonas</p>	 <p>Positivo ++</p>	 <p>Positivo ++</p>
<p>Cumarinas</p>	 <p>Negativo</p>	 <p>Negativo</p>
<p>Saponinas</p>	 <p>Positivo ++</p>	 <p>Positivo ++</p>
<p>Antocianinas</p>		

	Positivo ++	Positivo ++
Azúcares reductores		
	Positivo +	Positivo +
Grupo carbonilo		
	Positivo +	Positivo +

Actividad antioxidante



Prueba	<i>Porophyllum ruderale</i>	<i>Porophyllum linaria</i>
Contenido fenólico total		
Flavonoides		



FRAP		
DPPH	 <div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: flex-end; padding-right: 10px;"> <div data-bbox="1133 583 1338 621">Control DPPH</div> <div data-bbox="1133 772 1295 810"><i>P. ruderale</i></div> <div data-bbox="1133 961 1263 999"><i>P. linaria</i></div> </div>	

Morfología



Cada especie bacteriana se sembró en un medio selectivo para examinar su morfología bacteriana.

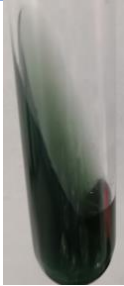


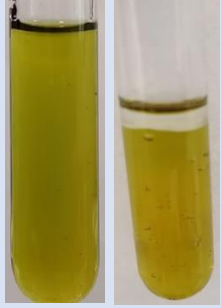
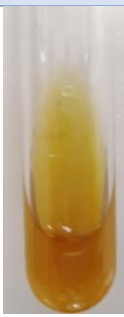

Imagen	Medio	Morfología
<i>Staphylococcus aureus</i>		


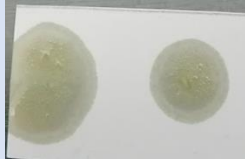
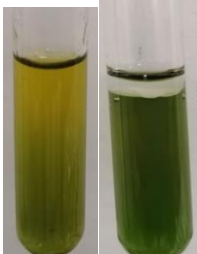
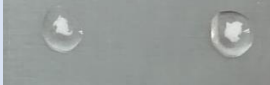

	<p>Agar sal manitol</p>	<p>Colonias amarillas</p>
<p><i>Enterococcus faecalis</i></p>		
	<p>Agar sangre</p>	<p>Colonias pequeñas, grisáceas y opacas</p>
<p><i>Escherichia coli</i></p>		

	<p>Eosina azul de metileno (EMB)</p>	<p>Colonias verdes metálico</p>
<p><i>Klebsiella pneumoniae</i></p>		
	<p>Agar MacConkey</p>	<p>Colonias grandes rosas debido a la fermentación de la lactosa</p>







Pruebas bioquímicas




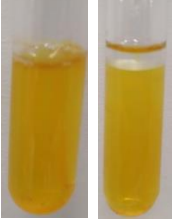
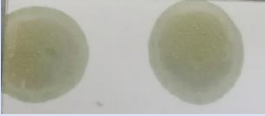


<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Enterococcus faecalis</i>	
<p>Urea</p>	 <p>Positiva</p>	<p>TSI</p>	

			A/A Color amarillo El microorganismo fermenta glucosa. Lactosa y sacarosa
Citrato	 Positivo	Nitrato	 Negativo
LIA	 Descarboxilación de la lisina +	O/F	 Positivo
TSI	 A/A Color amarillo El microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa	Catalasa	 Negativa

Nitrato	 <p>Positivo</p>	Oxidasa	 <p>Negativa</p>
O/F	 <p>Positivo</p>		
Catalasa	 <p>Positiva</p>		
Oxidasa	 <p>Negativa</p>		

<i>Escherichia coli</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
MIO	 <p>Móvil Indol positivo Ornitina positiva</p>	Urea	 <p>Positiva</p>

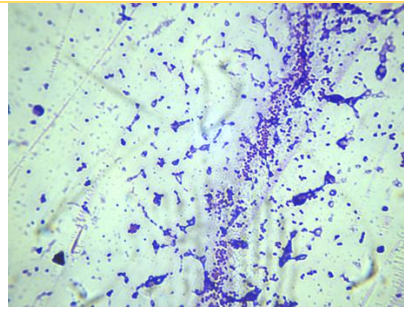
<p>LIA</p>	 <p>Descarboxilación de la lisina+</p>	<p>Citrato</p>	 <p>Positivo</p>
<p>TSI</p>	 <p>A/A Color amarillo El microorganismo fermenta glucosa., lactosa y sacarosa</p>	<p>LIA</p>	 <p>Descarboxilación de lisina +</p>
<p>Nitrato</p>	 <p>Positivo</p>	<p>TSI</p>	 <p>A/A Color amarillo El microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa</p>

O/F	 <p>Positivo</p>	Nitrato	 <p>Positivo</p>
Catalasa	 <p>Positiva</p>	O/F	 <p>Positivo</p>
Oxidasa	 <p>Negativa</p>	Catalasa	 <p>Positiva</p>
		Oxidasa	 <p>Negativa</p>

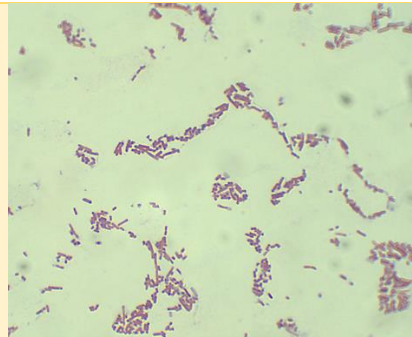
Tinción de gram

Bacteria	Tinción de Gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	

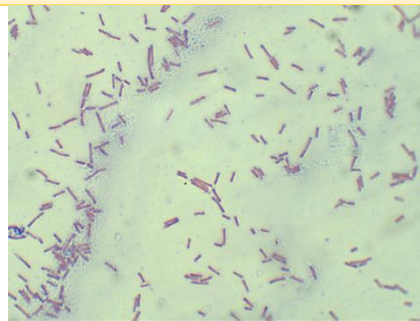
Enterococcus faecalis



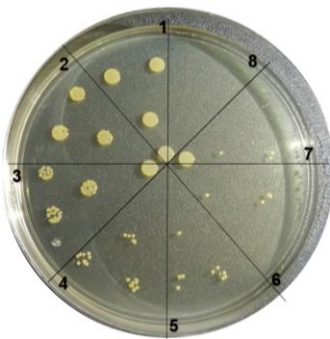
Klebsiella pneumoniae



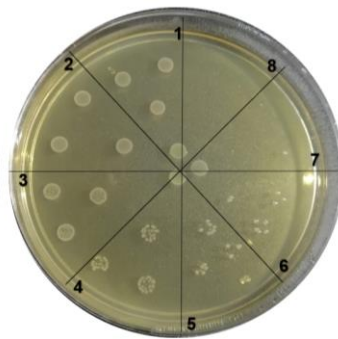
Escherichia coli



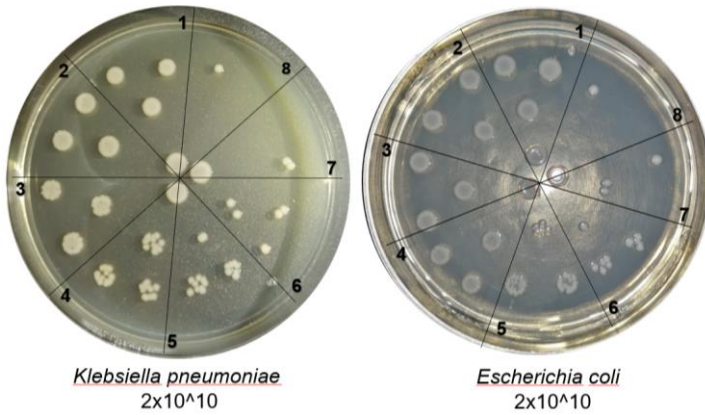
Conteo de UFC/ml



Staphylococcus aureus
 2×10^{10}

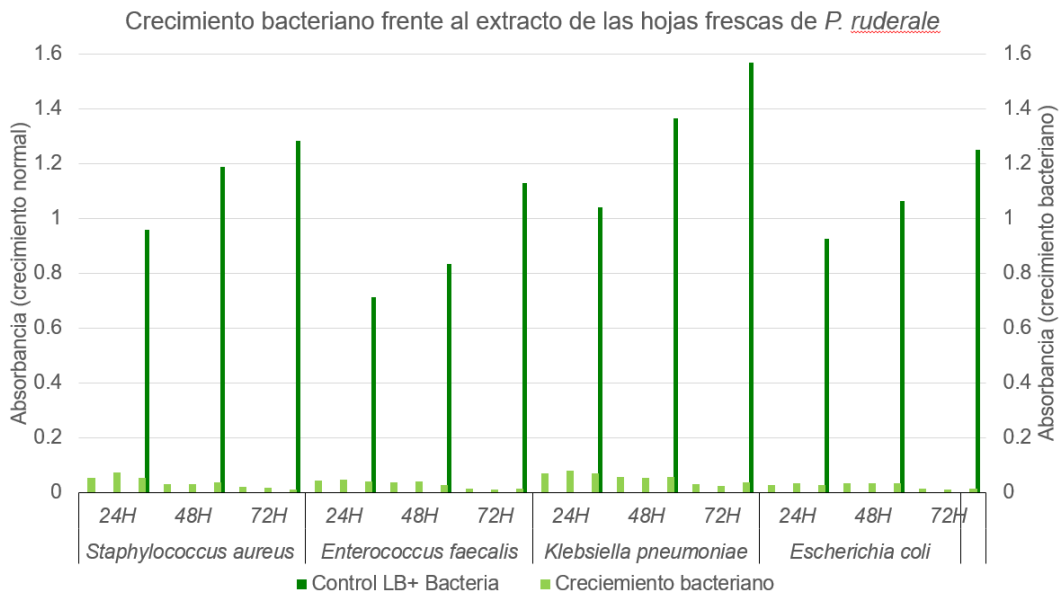


Enterococcus faecalis
 2×10^{10}

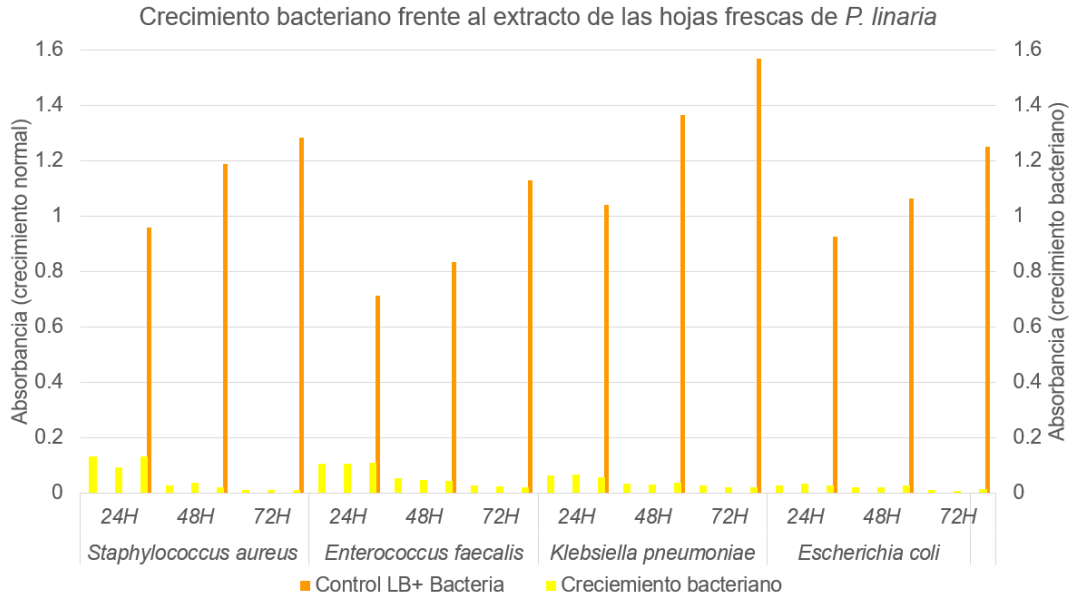


Gráficas inhibición de crecimiento con los extractos de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass (Jacq.) Cass. y *Porophyllum linaria* (Cav.) DC.

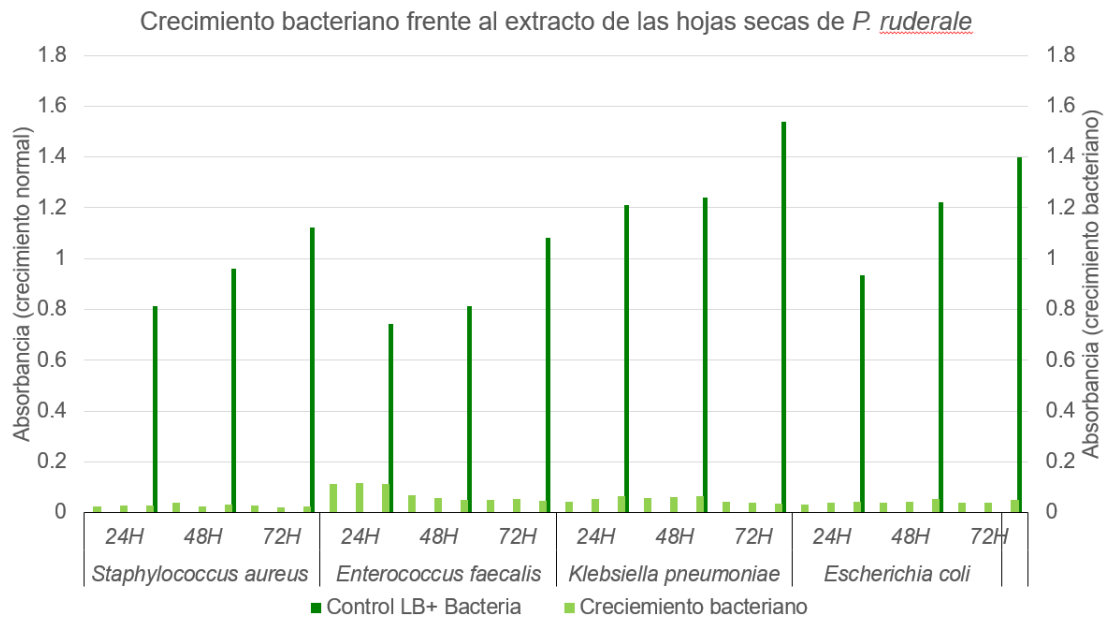
Extracto líquido



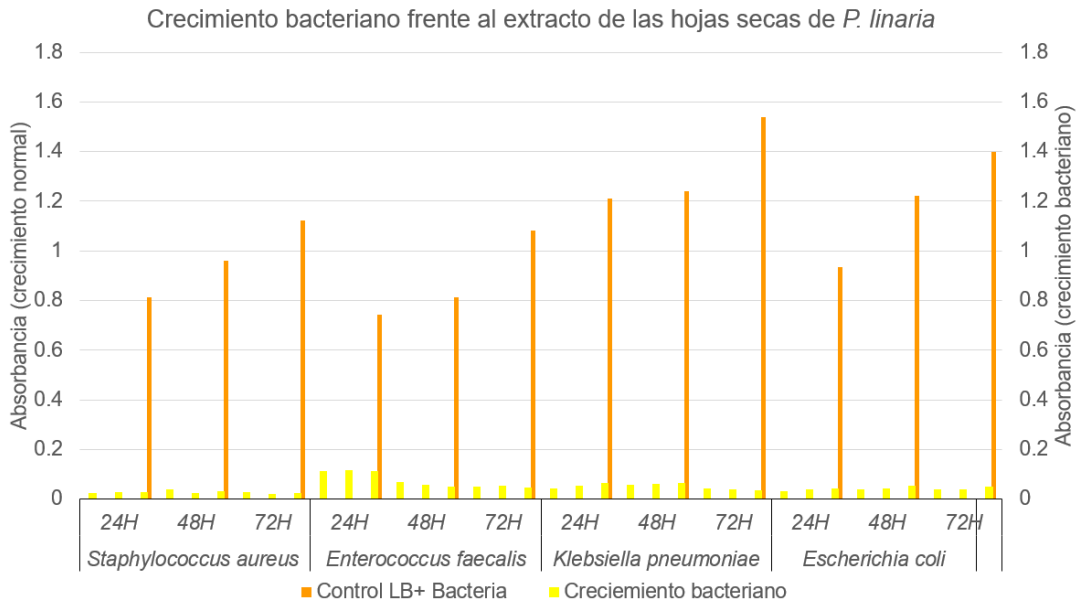
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por hojas frescas de los extractos acuosos de *P. ruderale*. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



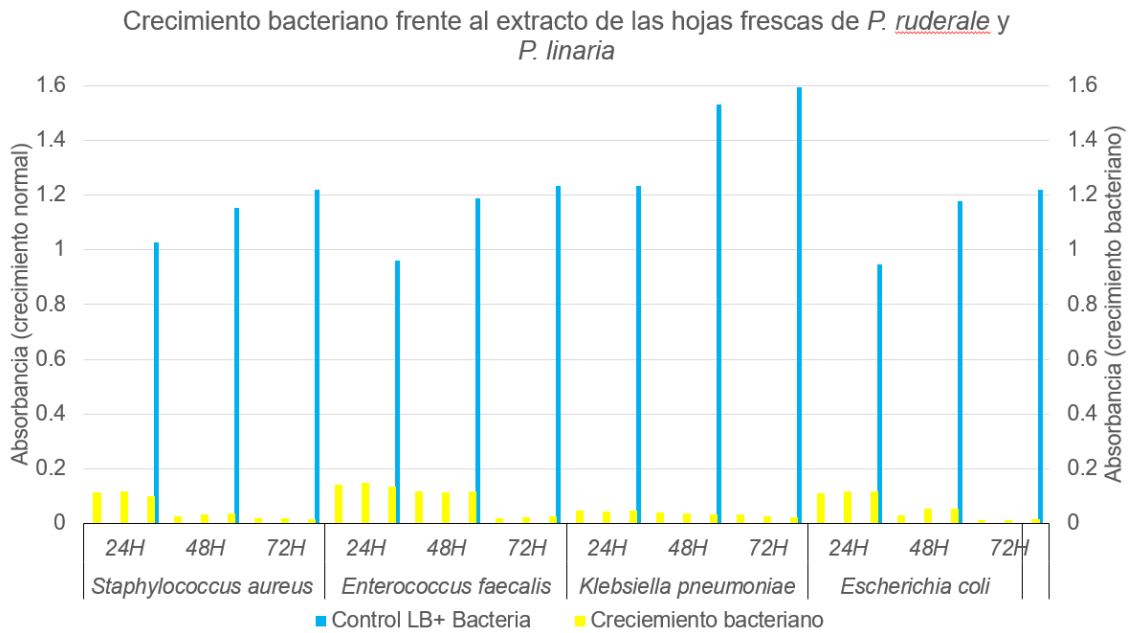
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por hojas frescas de los extractos acuosos de *P. linaria*. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por hojas secas de los extractos acuosos de *P. ruderale*. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

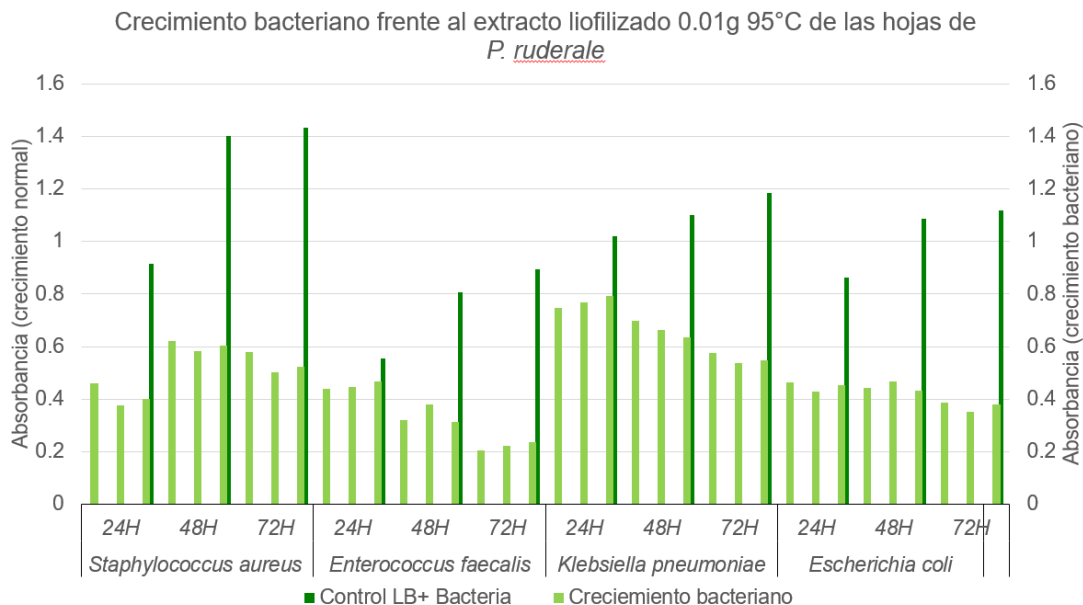


Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por hojas secas de los extractos acuosos de *P. linaria*. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

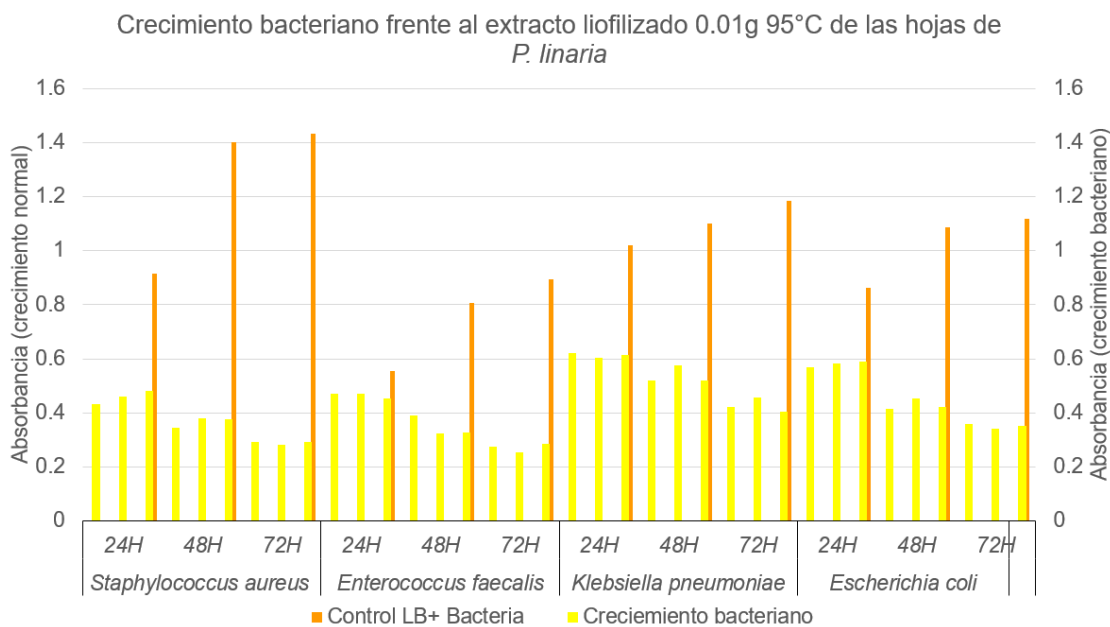


Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por hojas frescas de los extractos acuosos de *P. ruderale* y *P. linaria* en conjunto. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

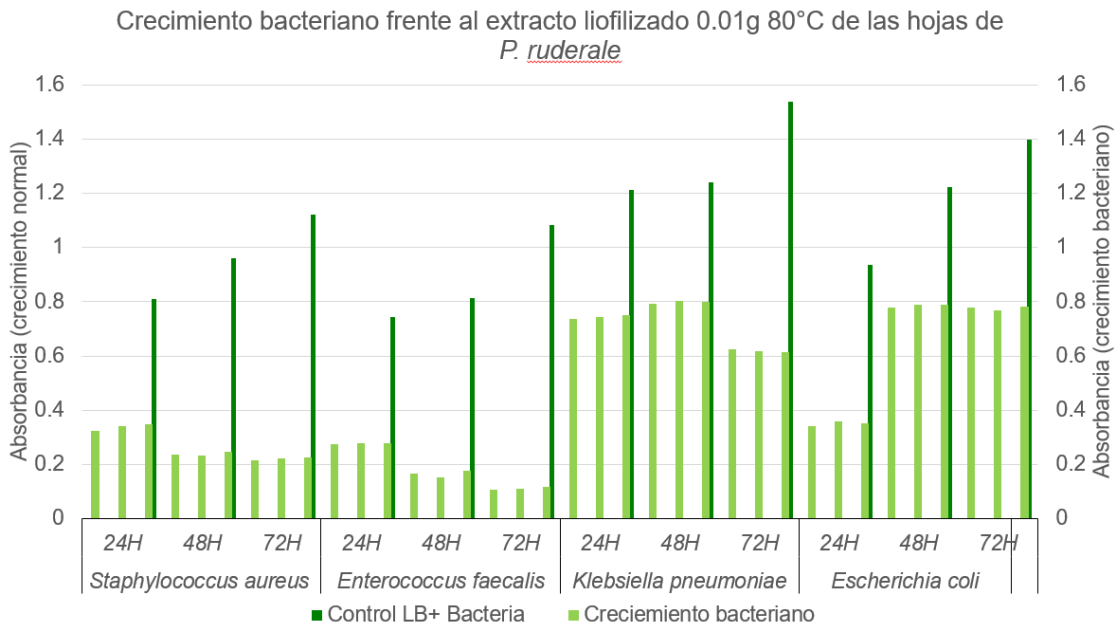
Extracto liofilizado



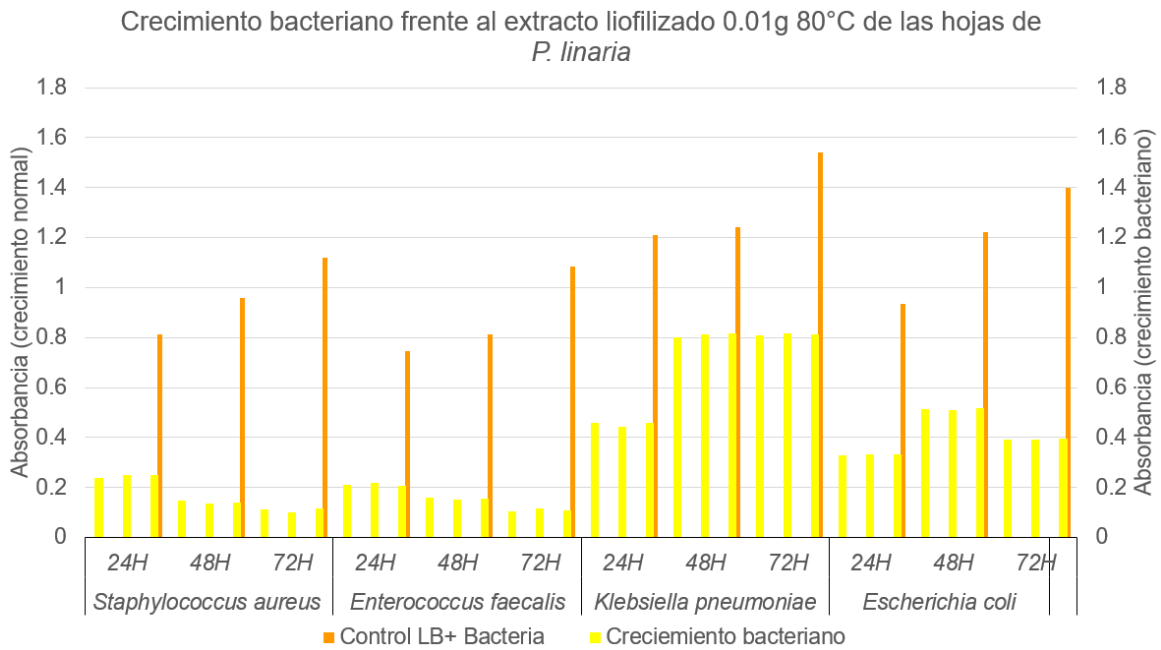
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por el extracto liofilizado de *P. ruderale* 0.01g 95°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



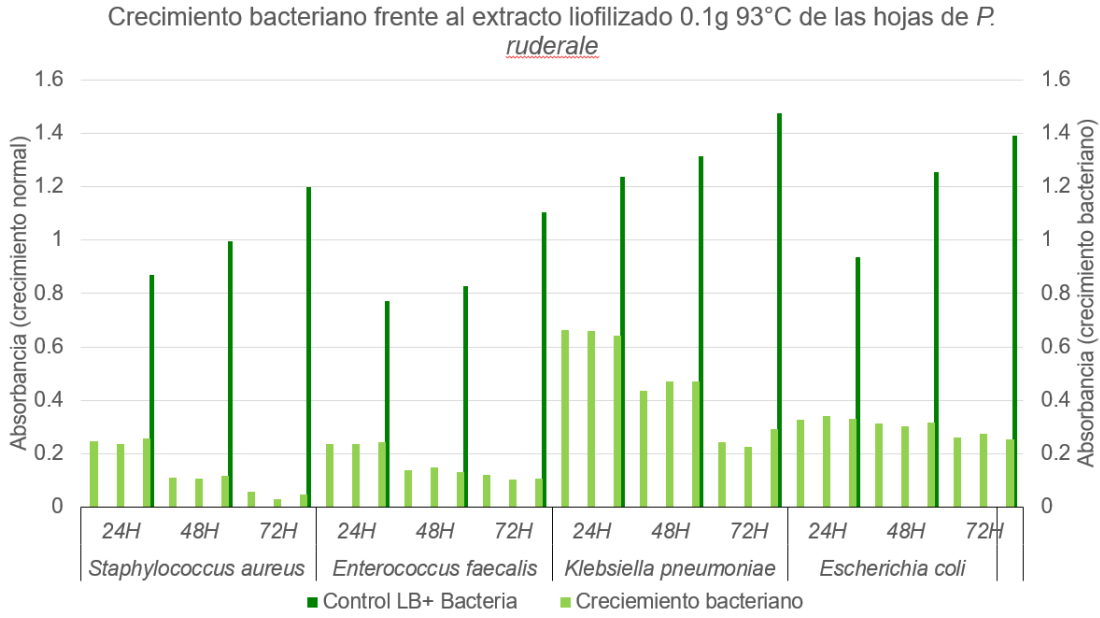
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado el extracto liofilizado de *P. linaria* 0.01g 95°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



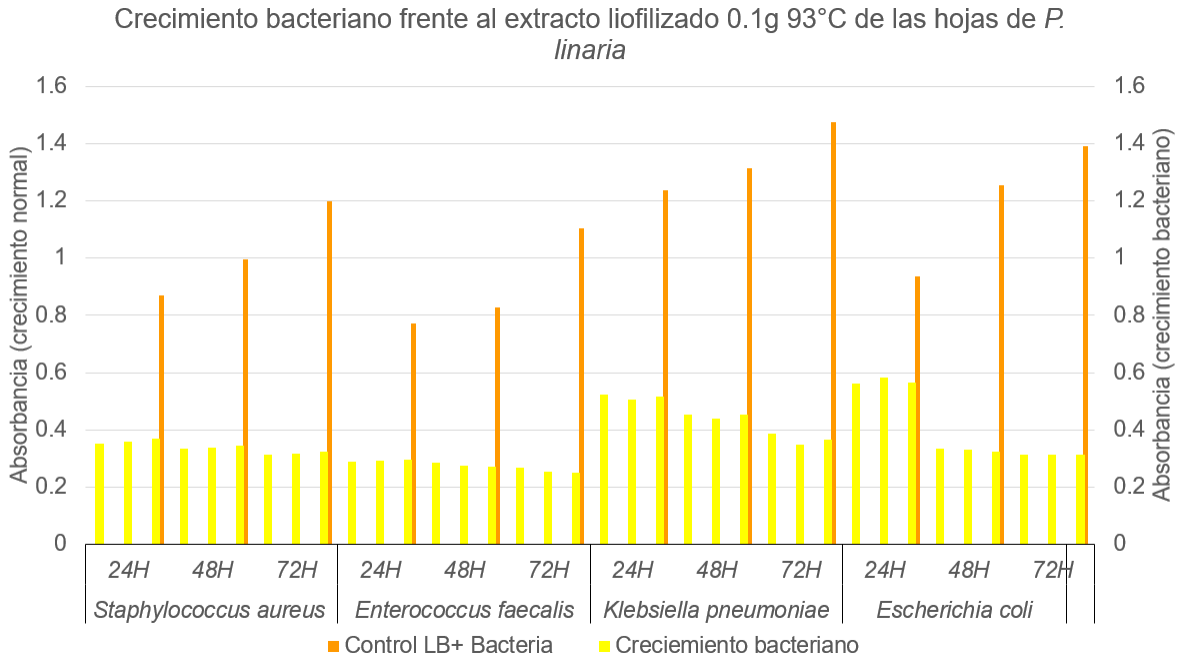
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por el extracto liofilizado de *P. ruderale* 0.01g 80°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



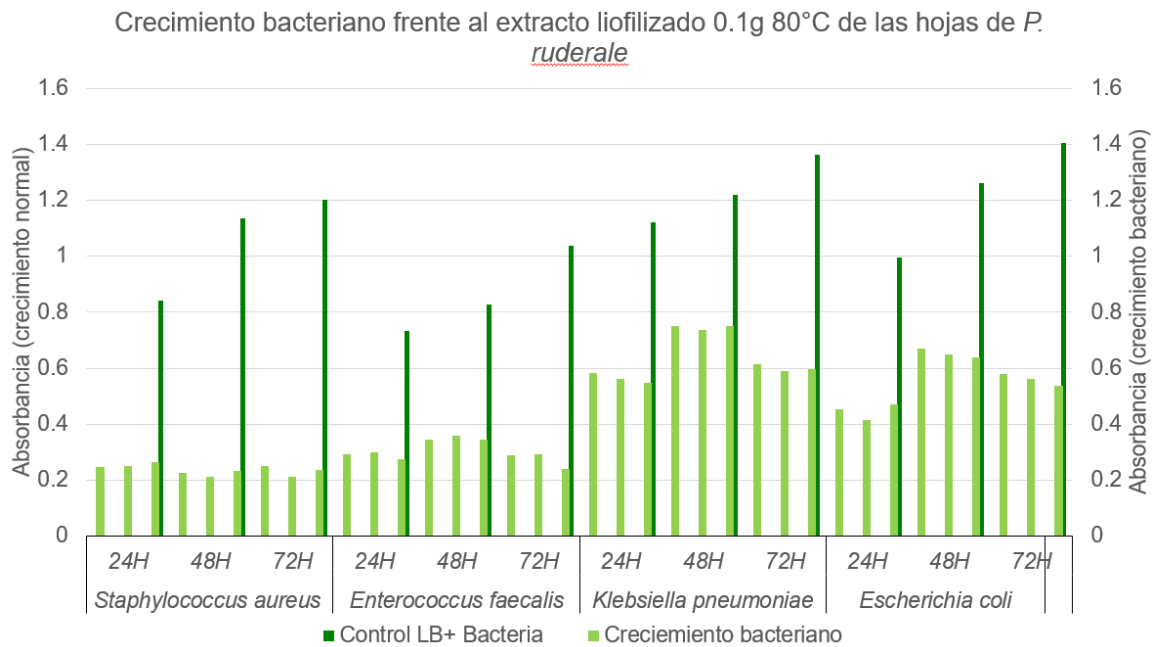
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por el extracto liofilizado de *P. linaria* 0.01g 80°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



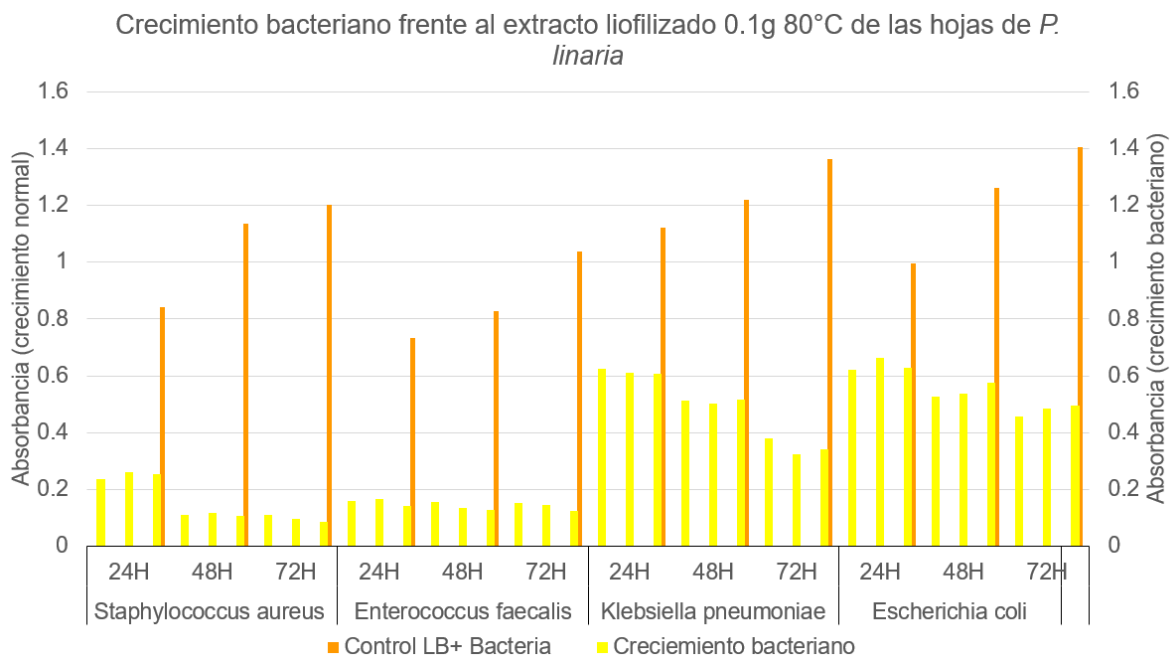
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por el extracto liofilizado de *P. ruderale* 0.1g 93°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado el extracto liofilizado de *P. linaria* 0.1g 93°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

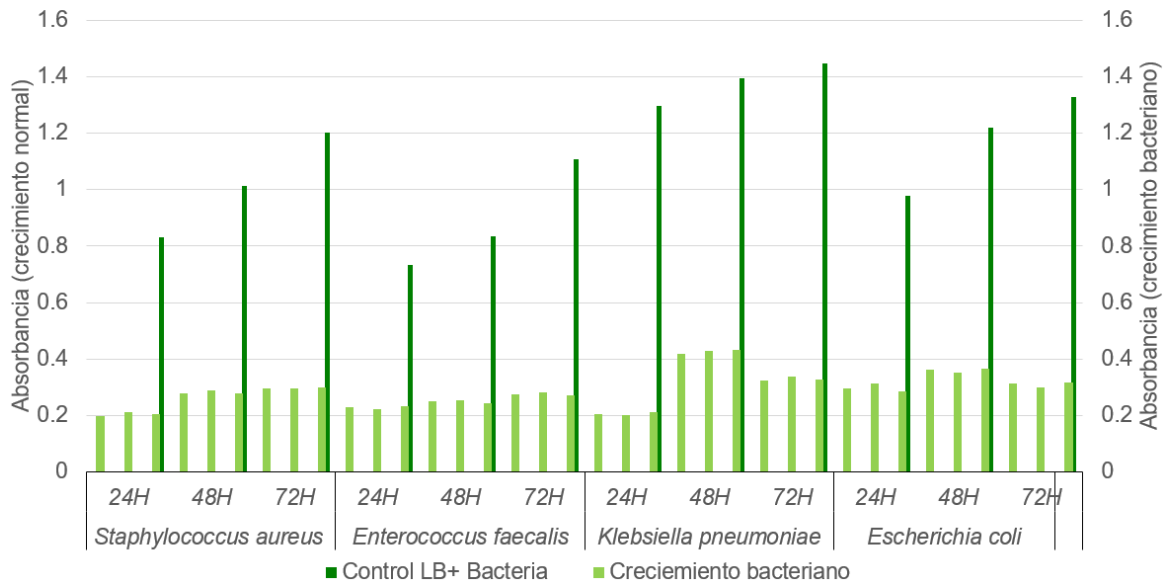


Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado del extracto liofilizado de *P. ruderale* 0.1g 80°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



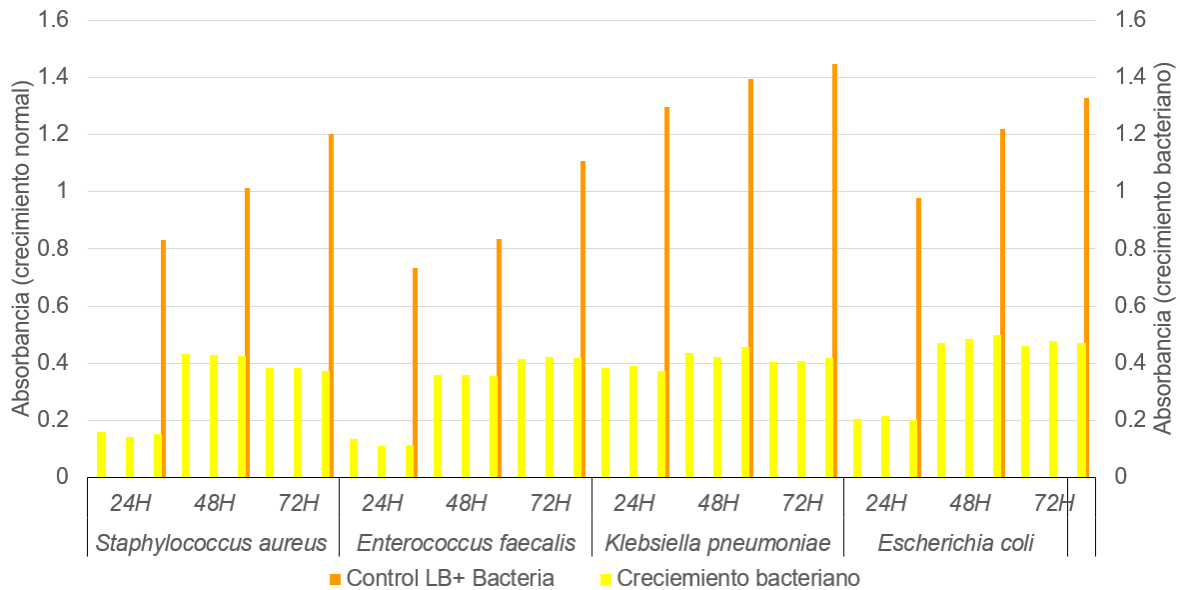
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado del extracto liofilizado de *P. linaria* 0.1g 80°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

Crecimiento bacteriano frente al extracto liofilizado 0.1g 95°C de las hojas secas de *P. ruderale*



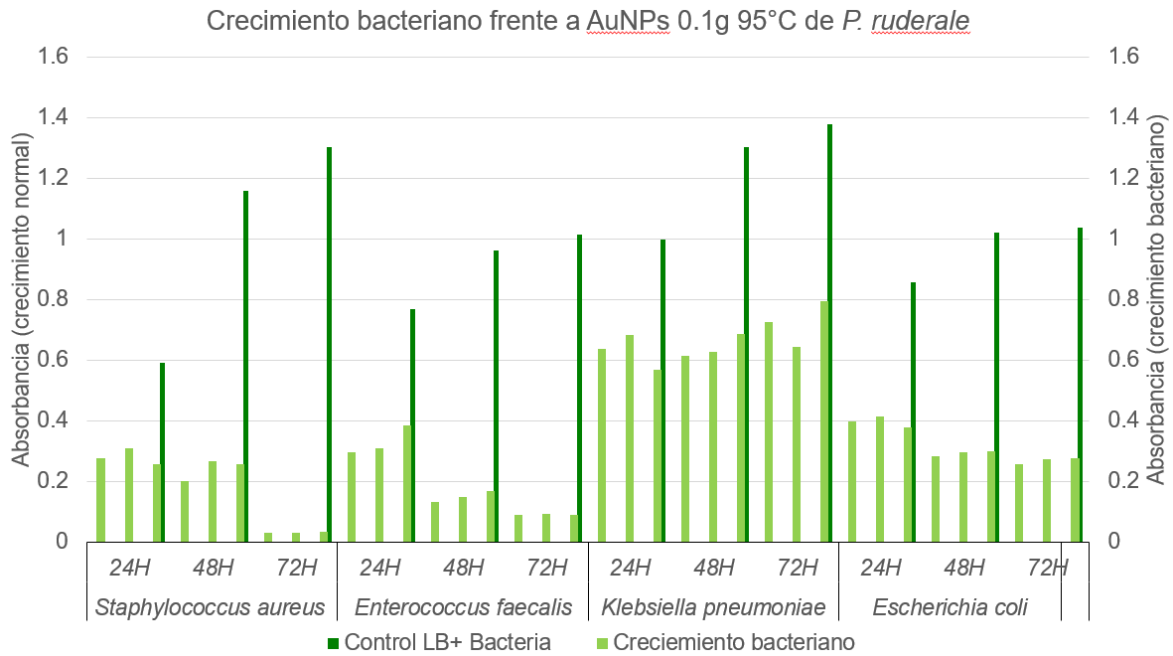
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado del extracto liofilizado de *P. ruderale* 0.1g 95°C. de hojas secas. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

Crecimiento bacteriano frente al extracto liofilizado 0.1g 95°C de las hojas secas de *P. linaria*

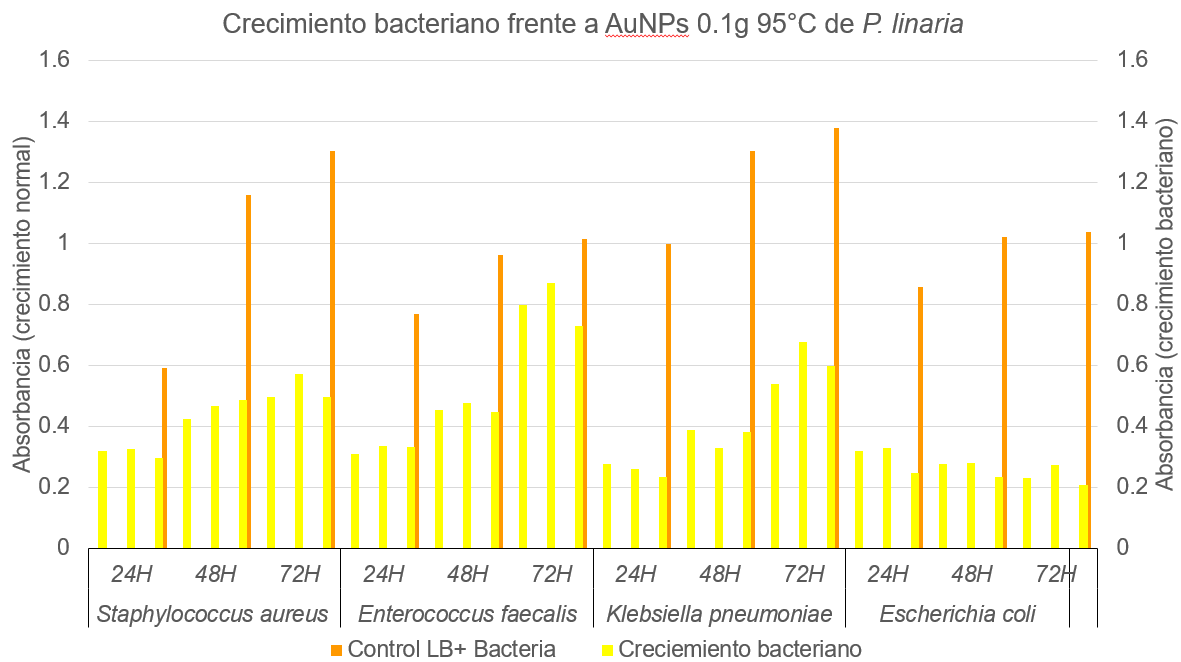


Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado del extracto liofilizado de *P. linaria* 0.1g 95°C. de hojas secas. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

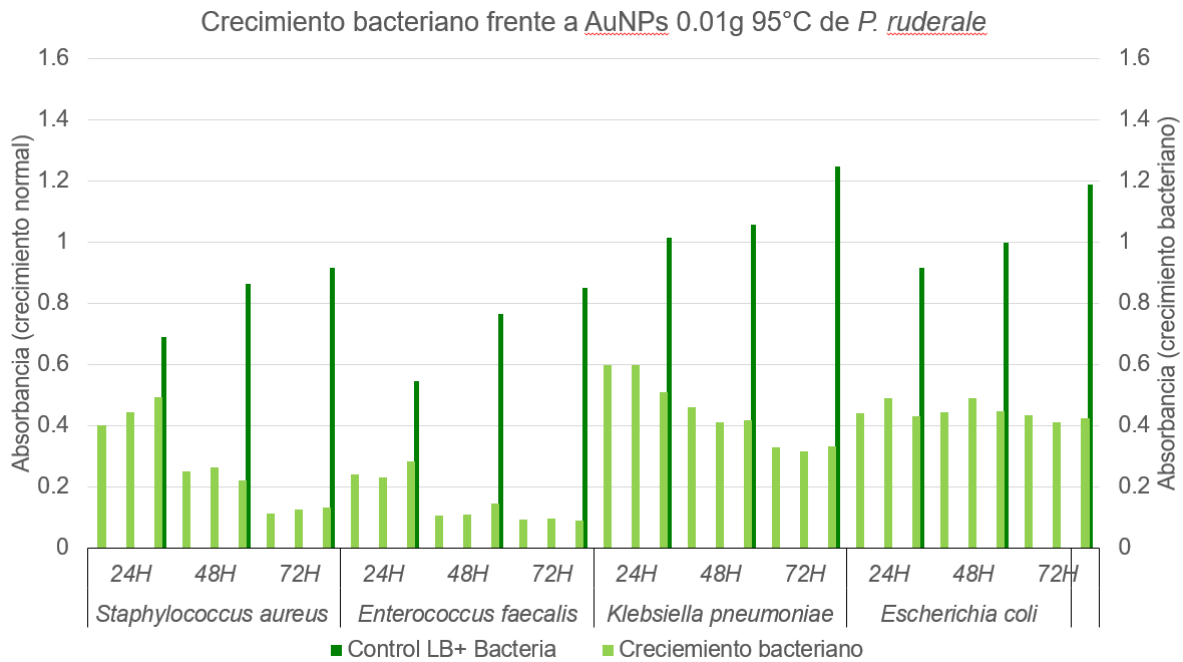
Nanopartículas



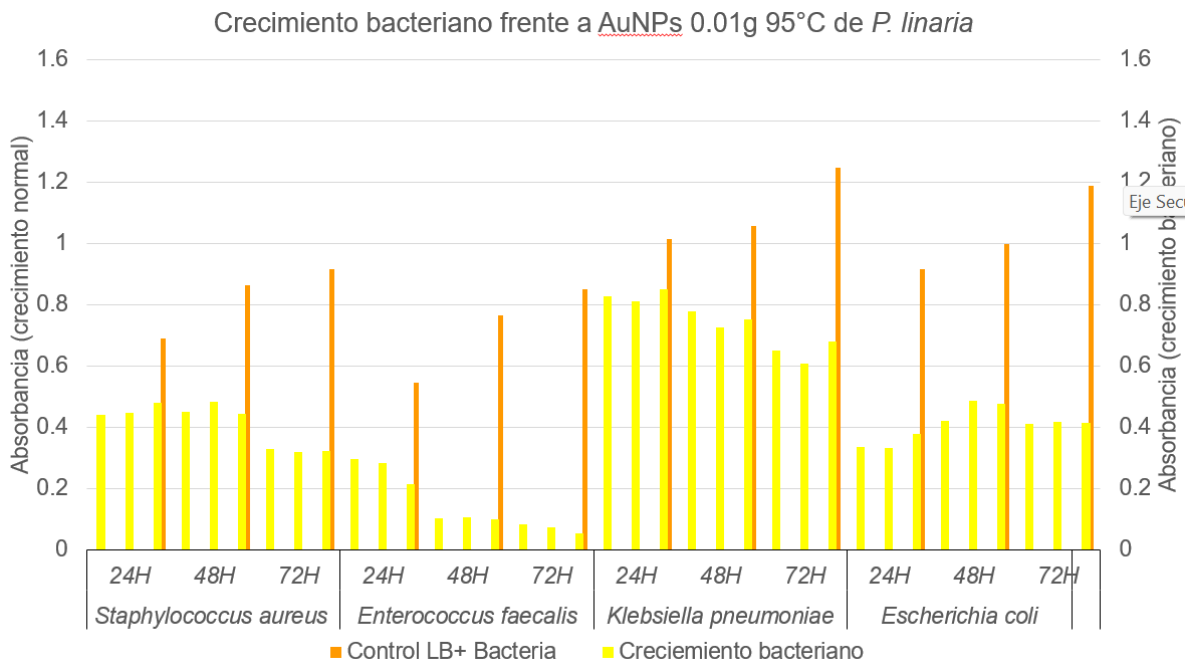
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. ruderale* 0.1g 95°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



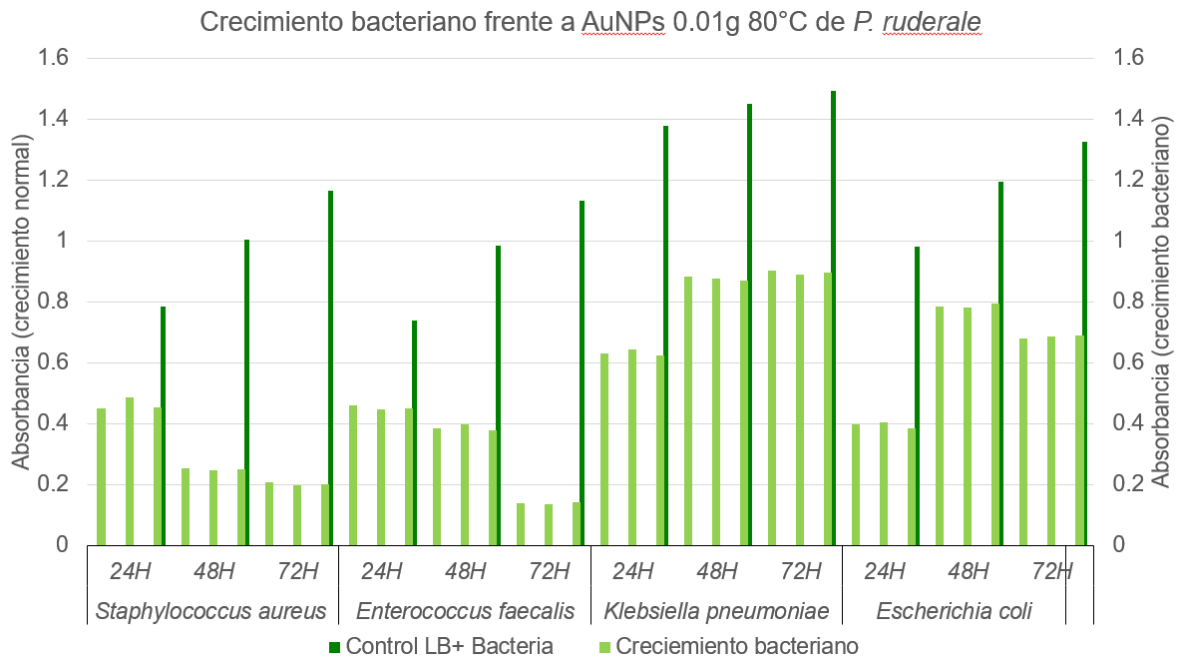
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. linaria* 0.1g 95°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



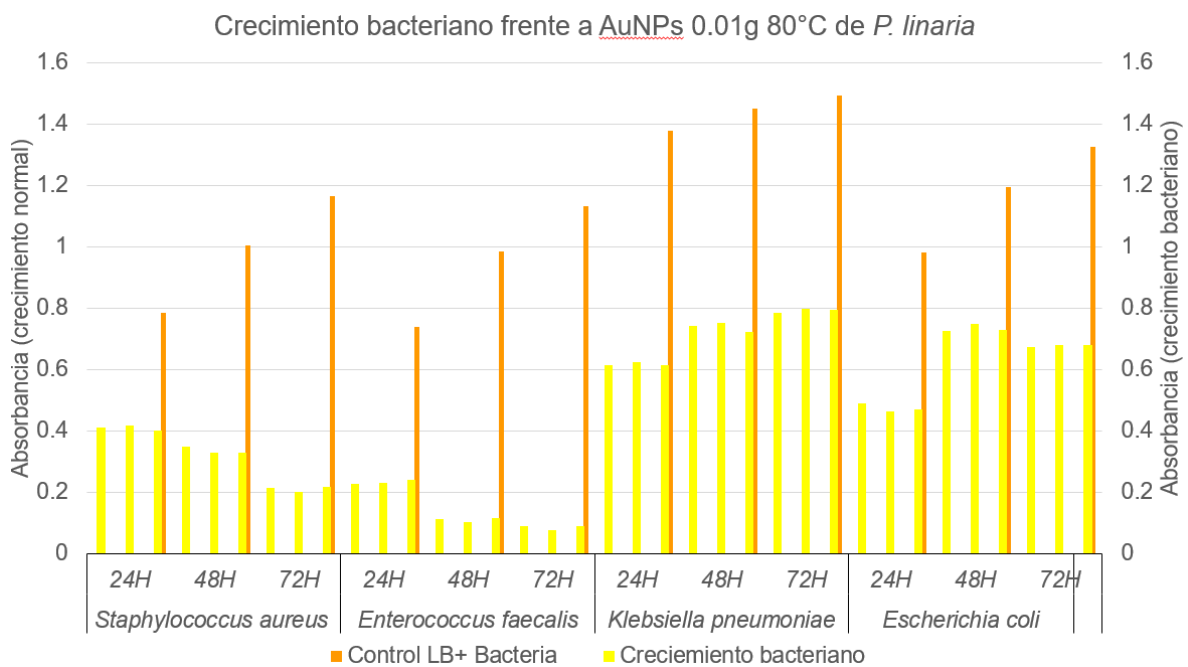
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. ruderale* 0.01g 95°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



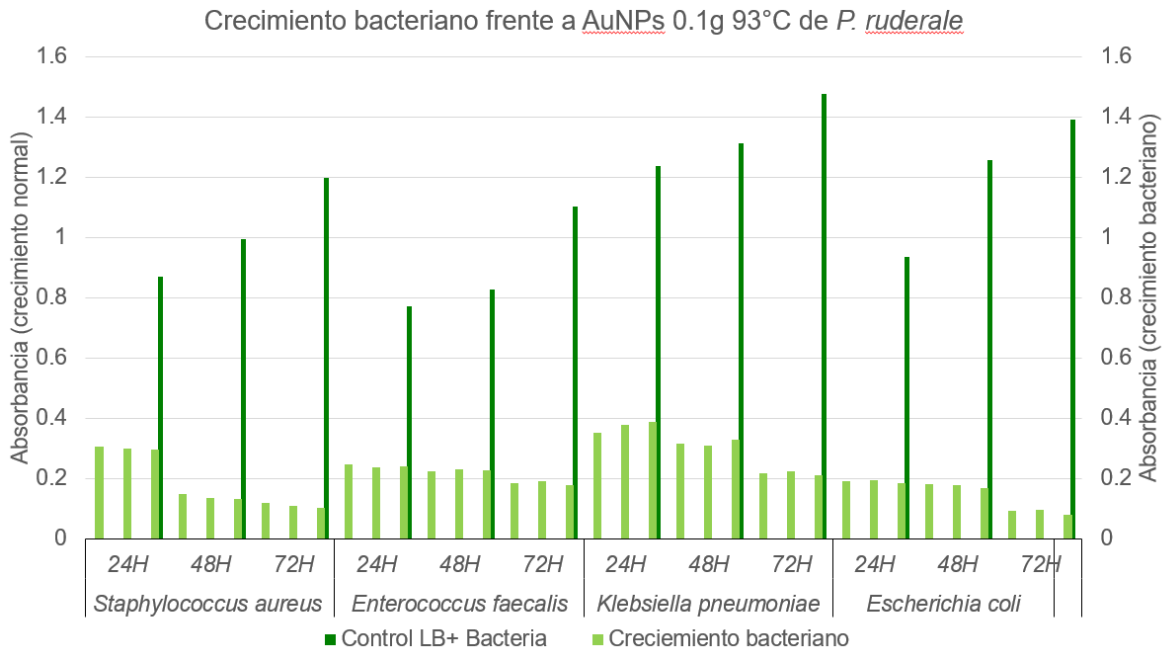
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. linaria* 0.01g 95°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



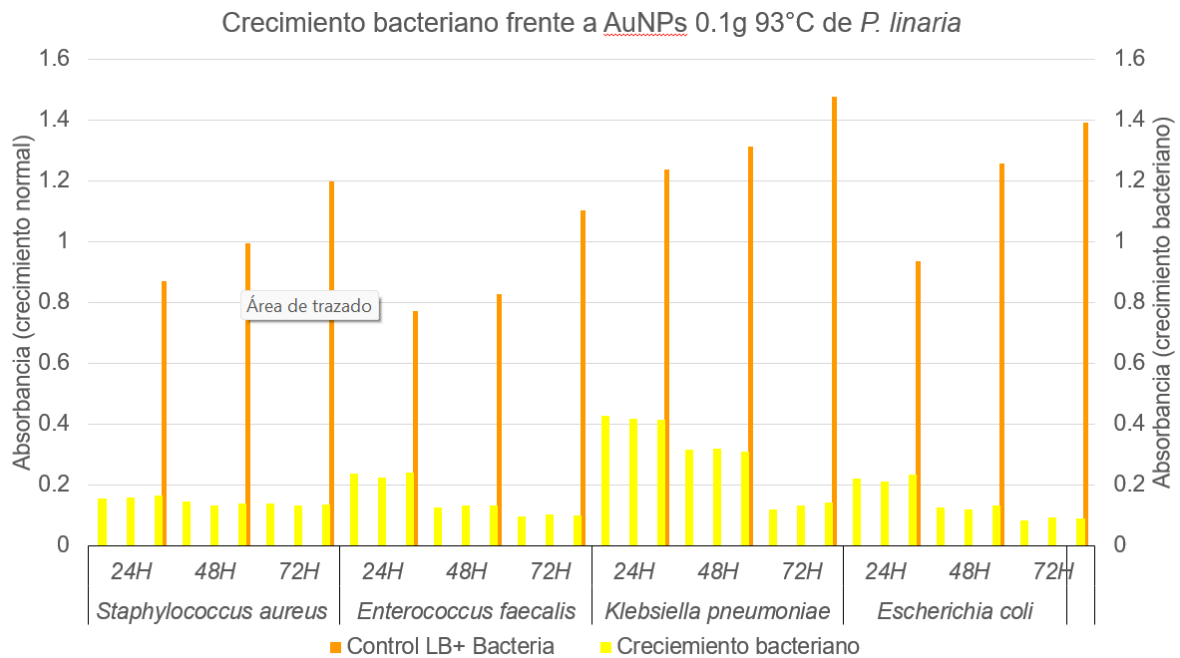
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. ruderale* 0.01g 80°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



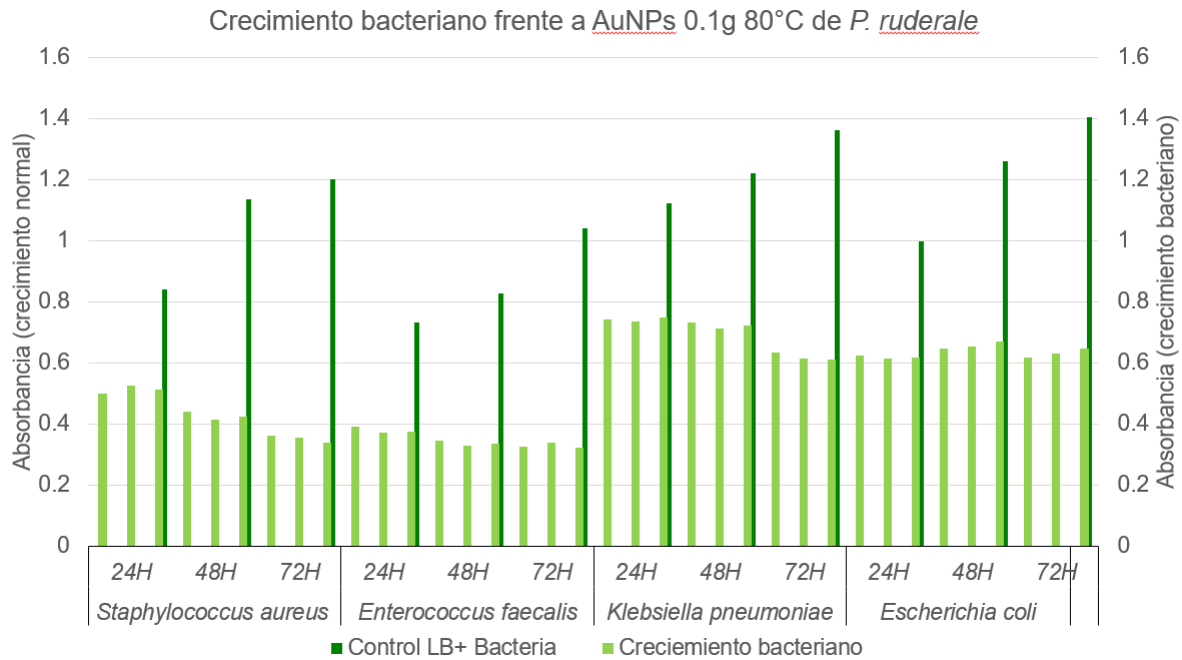
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. linaria* 0.01g 80°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



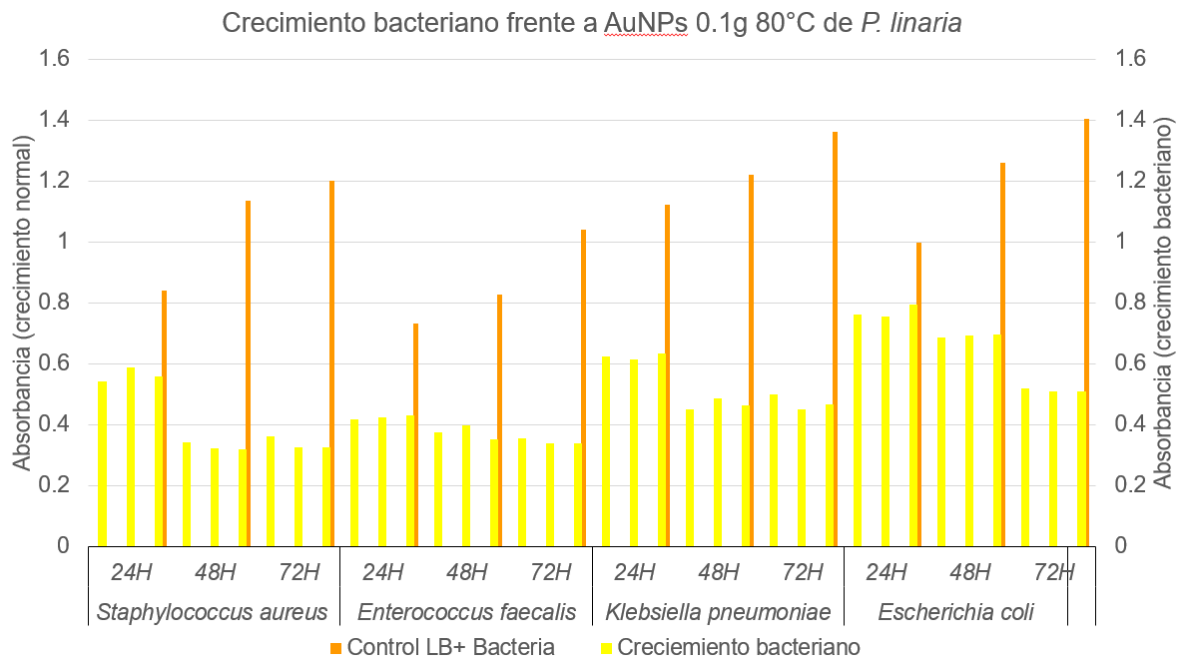
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. ruderale* 0.1g 93°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



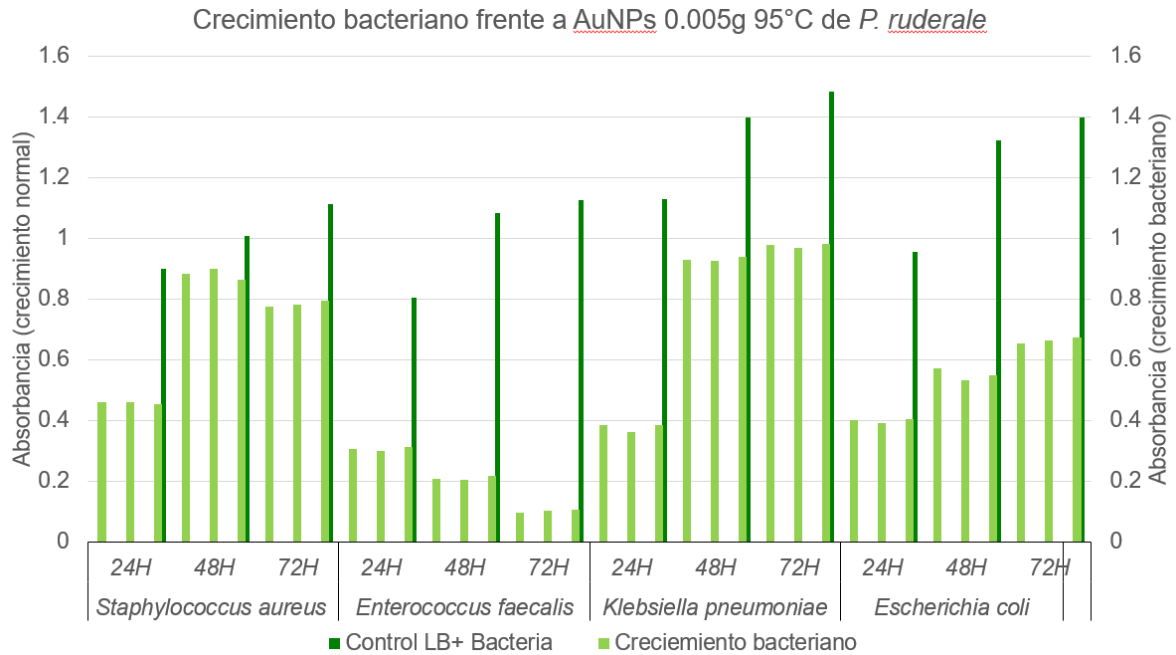
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. linaria* 0.1g 93°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



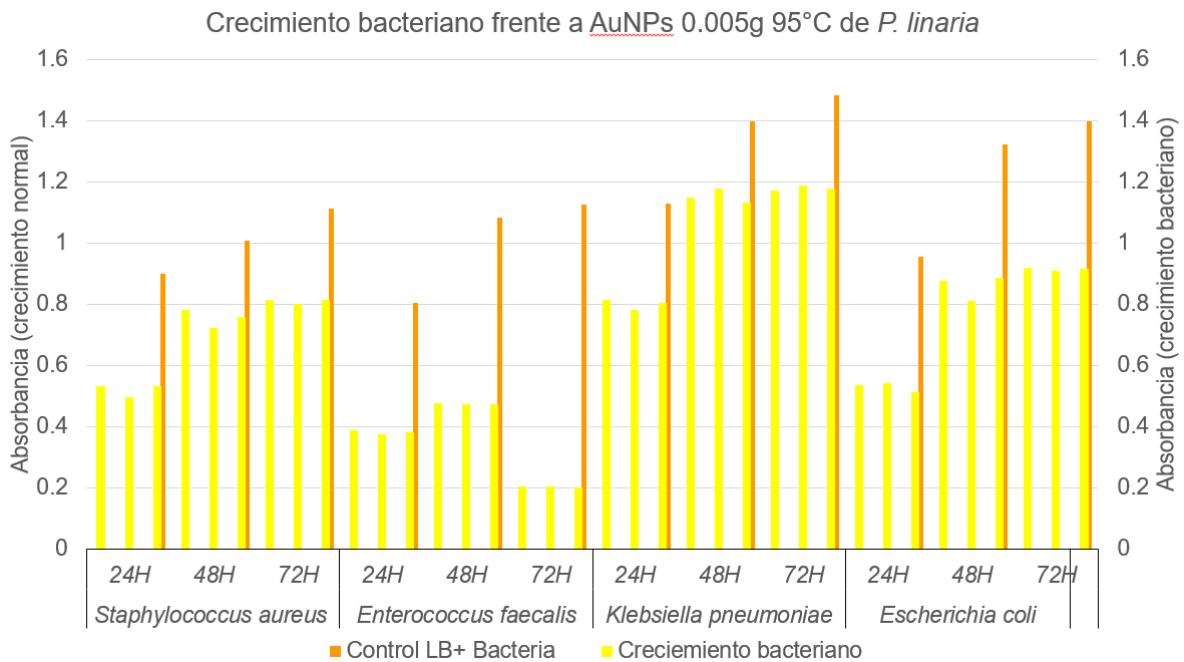
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. ruderale* 0.1g 80°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. linaria* 0.1g 80°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

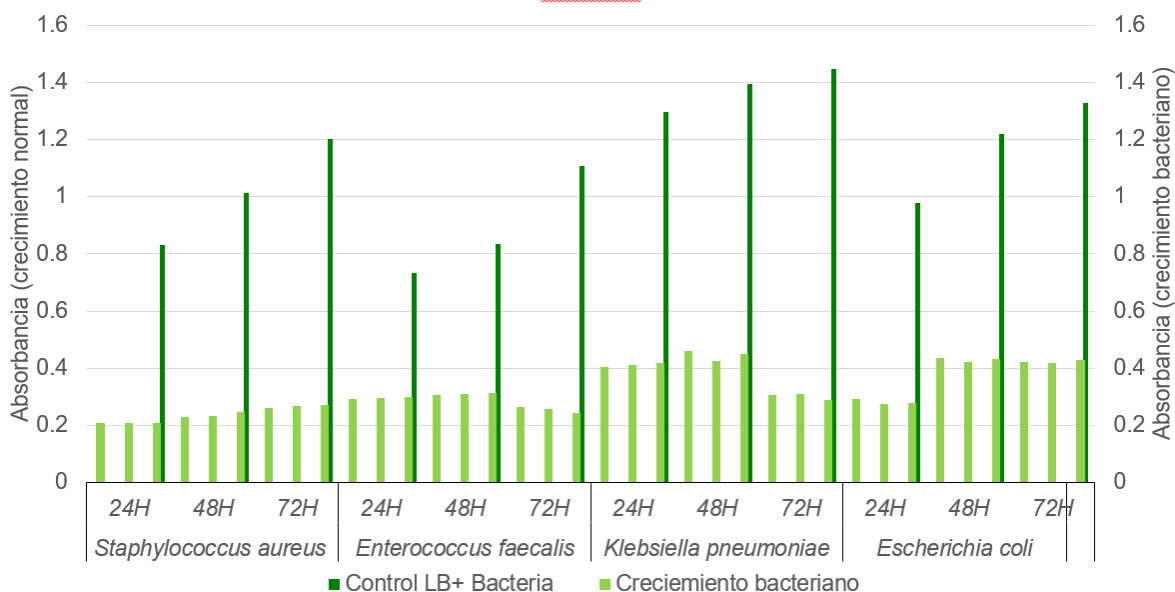


Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. ruderale* 0.005g 95°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas



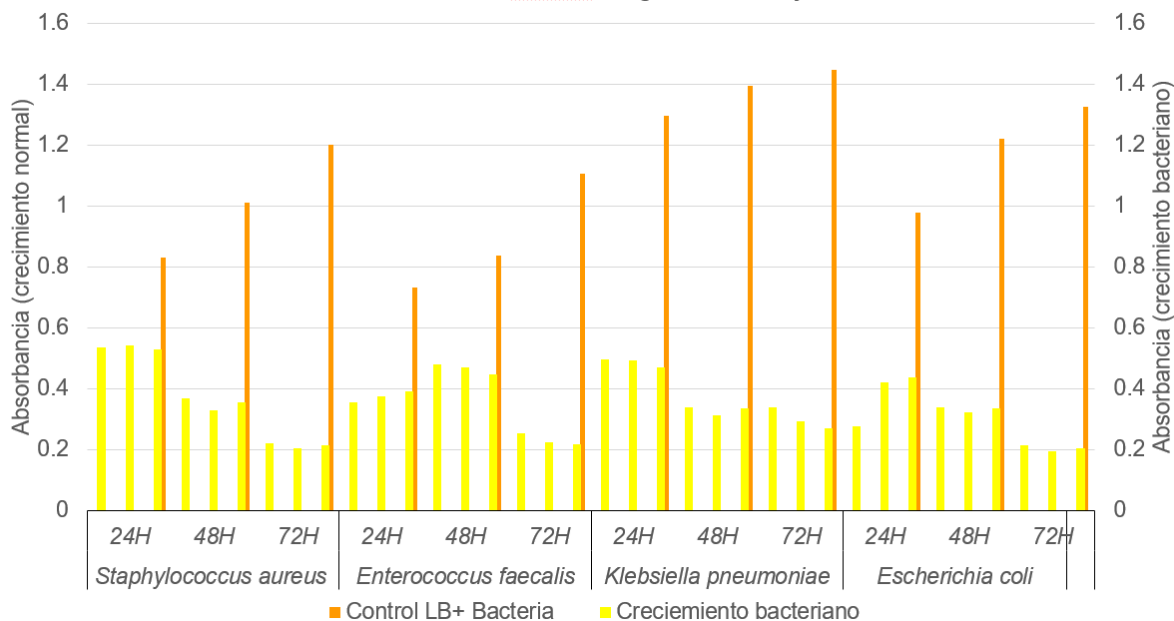
Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. linaria* 0.005g 95°C. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

Crecimiento bacteriano frente a AuNPs 0.1g 95°C de hojas secas de *P. ruderale*



Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. ruderale* 0.1g 95°C de hojas secas. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

Crecimiento bacteriano frente a AuNPs 0.1g 95°C de hojas secas de *P. linaria*



Crecimiento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *E. coli* provocado por nanopartículas de *P. linaria* 0.1g 95°C de hojas secas. Barras grandes: Controles, barras pequeñas: Réplicas

13. Asistencia a congresos



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

La Universidad Autónoma de Aguascalientes
otorga la presente



POSGRADOS
UAA

CONSTANCIA

a

**BIÓL. ALMA ROSA RODRÍGUEZ LÓPEZ;
DRA. ROCÍO PÉREZ Y TERRÓN;
DR. MARLON ROJAS LÓPEZ; DRA. VERÓNICA CEPEDA CORNEJO**

por su participación en la **Modalidad Cartel**
en la mesa de **Ciencias de la Salud**
dentro del



**CONGRESO
INTERNACIONAL**
LA INVESTIGACIÓN
EN EL POSGRADO
Edición Virtual

SE LUMEN PROFERRE
Aguascalientes, Ags. 12, 13 y 14 de Octubre de 2022



Dr. Francisco Javier Avelar González
Rector



Mtra. Elizabeth Casillas Casillas
Directora General de Investigación y Posgrado



**LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE INFECTOLOGÍA
Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA, A.C.,**
otorga la presente **constancia** a:

ALMA ROSA RODRÍGUEZ LÓPEZ

Por su valiosa participación en el

XLVII Congreso Nacional de Infectología y Microbiología Clínica
que se llevó a cabo del 24 al 27 de mayo 2023 en la ciudad de Boca del Río, Veracruz, México

Dr. Gerardo Martínez Aguilar
Presidente
Asociación Mexicana de Infectología
y Microbiología Clínica AC

Dra. Patricia Cornejo Juárez
Vice Presidenta
Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología
Clínica AC



LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE INFECTOLOGÍA
Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA, A.C.,

otorga la presente **constancia** a:

ALMA ROSA RODRÍGUEZ LÓPEZ

Por su participación en el curso

ANTIBIÓTICOS Y RESISTENCIA BACTERIANA

**XLVII Congreso Nacional de Infectología y Microbiología Clínica
24 al 27 de mayo 2023, Boca del Río, Veracruz, México**

Dr. Gerardo Martínez Aguilar
Presidente
Asociación Mexicana de Infectología
y Microbiología Clínica AC

Dra. Patricia Cornejo Juárez
Vice Presidenta
Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología
Clínica AC

