



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFFECTO DE TRES DERIVADOS DE CÚRCUMA SOBRE
EL CRECIMIENTO DE *Escherichia coli*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

MELISSA RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ

TUTORA: Dra. EILEEN URIBE QUEROL

ASESOR: Dr. RAÚL GUILLERMO ENRIQUEZ HABIB

ASESORA: Mtra. MARÍA TERESA RAMÍREZ ÁPAN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de tesis de licenciatura se realizó bajo la dirección de la Dra. Eileen Uribe Querol, con las asesorías técnicas del Dr. Raúl Guillermo Enríquez Habib, la Mtra. María Teresa Ramírez Ápan y el Dr. Marco Antonio Obregón Mendoza, para el desarrollo experimental se contó con el apoyo del proyecto FOINS-PRONACES-307152 “Complejos Metálicos Novedosos de Curcumina y Curcuminoides en la Batalla contra el Cáncer” otorgado por CONAHCyT bajo la responsabilidad del Dr. Raúl Guillermo Enríquez Habib.

Al Dr. Gonzalo Montoya Ayala, al Dr. Duarte Serrano Armando Jorge, a la Dra. Paola Eréndira Castro Castro y a la Laboratorista Liliana Velasco Celaya, pertenecientes al Laboratorio de Ecología Oral de la Facultad de Odontología de la UNAM, por su paciencia, apoyo y conocimientos.

El procesamiento y crecimiento microbiológicos de la cepa fueron realizados en el Laboratorio de Genética Molecular que se encuentra en la División de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPeI) de la Facultad de Odontología UNAM, bajo el cargo de la Dra. Laurie Ann Ximénez-Fyvie y como responsable del procesamiento microbiológico y procesamiento de datos del proyecto, a la Dra. Adriana Patricia Rodríguez Hernández con apoyo de la C.D. Monserrat Ramírez Bautista. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con la certificación ISO: 9001: 2015 del área, en servicios de Diagnóstico e Identificación Microbiológica <https://labgenmol-fo-unam.com/quienes-somos/certificaciones/>.

DEDICATORIA

Salmo 103:1-5 *"Bendice, alma mía, a Jehová, Y bendiga todo mi ser su santo nombre. Bendice, alma mía, a Jehová, Y no olvides ninguno de sus beneficios. Él es quien perdona todas tus iniquidades, El que sana todas tus dolencias; El que rescata del hoyo tu vida, El que te corona de favores y misericordias; El que sacia de bien tu boca De modo que te rejuvenezcas como el águila."*

Para mi mamá Idalid y hermano Eduardo:

Esta tesis no solo representa un logro académico, sino también un tributo a ustedes, quienes siempre creyeron en mí más allá de las adversidades y fueron mi luz en los días oscuros. Cada palabra es un susurro de gratitud por el amor que me dieron y por la fortaleza que siempre encontré en ustedes hasta el último día.

Aunque ya no pueda abrazarlos físicamente, sus sonrisas, consejos, valores, amor incondicional y su memoria viven en mí, gracias por apoyarme hasta el final e inspirarme a ser quien soy y por enseñarme que la constancia y el sacrificio son los pilares que sostienen mis sueños y esperanzas.

Todo lo que soy y pueda ser, se los debo a ustedes.

Para mi Papá José:

Esta tesis es un testimonio de la profunda gratitud y admiración que siento por ti, no solo como mi padre, sino como mi inspiración. Cada página de ella lleva impreso el valor y la sabiduría que me has transmitido a lo largo de los años.

Gracias por haberme enseñado con tu ejemplo a ser perseverante, a no rendirme ante los desafíos y a siempre buscar la excelencia en todo lo que hago. Tus consejos y palabras de aliento han sido mi combustible en los momentos más difíciles, y tu amor incondicional ha sido mi refugio en los momentos de incertidumbre.

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS	
DEDICATORIA	
ÍNDICE	
RESUMEN	<u>1</u>
CAPÍTULO I: <i>Escherichia coli</i>	<u>2</u>
1.1 Historia	<u>2</u>
1.2 Taxonomía	<u>2</u>
1.3 Características	<u>3</u>
1.4 Clasificación de cepas de <i>E. coli</i> con base en su patogenicidad	<u>4</u>
1.4.1 <i>E. coli</i> enterohemorrágica (EHEC)	<u>4</u>
1.4.2 <i>E. coli</i> enterotoxigénica (ETEC)	<u>5</u>
1.4.3 <i>E. coli</i> enteroinvasiva (EIEC)	<u>6</u>
1.4.4 <i>E. coli</i> enteropatógena (EPEC)	<u>6</u>
1.4.5 <i>E. coli</i> enteroagregativa (EAEC)	<u>6</u>
1.4.6 <i>E. coli</i> de adherencia difusa (DAEC)	<u>7</u>
1.5 Enfermedades asociadas a <i>E. coli</i> en México	<u>7</u>
1.6 Fisiopatología	<u>9</u>
CAPÍTULO II: <i>Curcuma Longa</i>	<u>10</u>
2.1 Historia	<u>10</u>
2.2 Taxonomía	<u>11</u>
2.3 Composición química	<u>11</u>
2.4 Curcumina	<u>12</u>
2.5 Usos terapéuticos	<u>13</u>
2.6 Derivados curcuminoides	<u>13</u>
CAPÍTULO III: Sinergia con antibióticos y mecanismos de acción	<u>15</u>
3.1 Mecanismos de acción	<u>16</u>
ANTECEDENTES	<u>17</u>
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	<u>19</u>
JUSTIFICACIÓN	<u>19</u>
HIPÓTESIS	<u>19</u>

OBJETIVO GENERAL	<u>19</u>
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	<u>20</u>
MATERIALES Y MÉTODOS	<u>20</u>
Materiales	<u>20</u>
Métodos	<u>21</u>
RESULTADOS	<u>24</u>
DISCUSIÓN	<u>29</u>
CONCLUSIONES	<u>31</u>
PERSPECTIVAS FUTURAS	<u>31</u>
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	<u>33</u>

RESUMEN

Escherichia coli es una bacteria Gram negativa que comprende una extensa gama de cepas, entre comensales y patógenas, ampliamente distribuidas y asociadas con diversas enfermedades infecciosas en humanos. El objetivo de esta tesis fue el estudiar el efecto de la curcumina y de tres derivados metálicos formulados con beta-ciclodextrina sobre el crecimiento de una cepa de *E. coli*. Para ello, se probaron diferentes concentraciones de curcumina y de los tres derivados metálicos mencionados usando un ensayo de inhibición del crecimiento bacteriano. Las concentraciones usadas en este trabajo no mostraron inhibición del crecimiento de *E. coli*. Concluimos que concentraciones iguales o menores a 18 μM tanto de curcumina como de cada uno de los derivados metálicos no son suficientes para inhibir el crecimiento de *E. coli*.

CAPITULO I

Escherichia coli

1.1 Historia

En 1885, el microbiólogo alemán y pediatra Theodor Escherich (Figura 1a) realizó y publicó diversas investigaciones sobre la difteria y las infecciones intestinales en niños. En ese mismo año, descubrió al *Bacillus coli communis*, un bacilo tifoideo patógeno. ⁽¹⁾ Láminas de las observaciones del Escherich se publicaron en el Manual de Microorganismos Patógenos (Figura 1b). Dentro de sus investigaciones realizó un estudio con heces fecales de neonatos y descubrió que las heces de los bebés al nacer son estériles. Sin embargo, a las pocas horas de nacidos, los bebés son colonizados por microorganismos. Escherich aisló algunos de estos microorganismos para investigarlos (Figura 1c). Para ello, desarrolló métodos de cultivo anaeróbico y utilizó la técnica de tinción de Hans Christian Gram para identificarlos ⁽¹⁾. Escherich reportó la presencia de un tipo de bacteria que era muy frecuente en las porciones bajas del intestino grueso, por lo que las llamó: “bacterias colónicas” o *Bacterium coli commune*. Tres décadas y media después, se propuso cambiar el nombre de esta bacteria a *Escherichia coli*. ⁽²⁾

Entre sus diversas investigaciones, Escherich también demostró que la leche materna extraída desde el primer día después del nacimiento del bebé, hasta ocho meses después era estéril, mientras que la leche de madres febriles contenía estafilococos amarillos y blancos.

1.2 Taxonomía

Dominio: Bacteria
Filo: *Pseudomonadota*
Clase: *Gammaproteobacteria*
Orden: *Enterobacterales*
Familia: *Enterobacteriaceae*
Género: *Escherichia*
Especie: *Escherichia coli* o *E. coli*

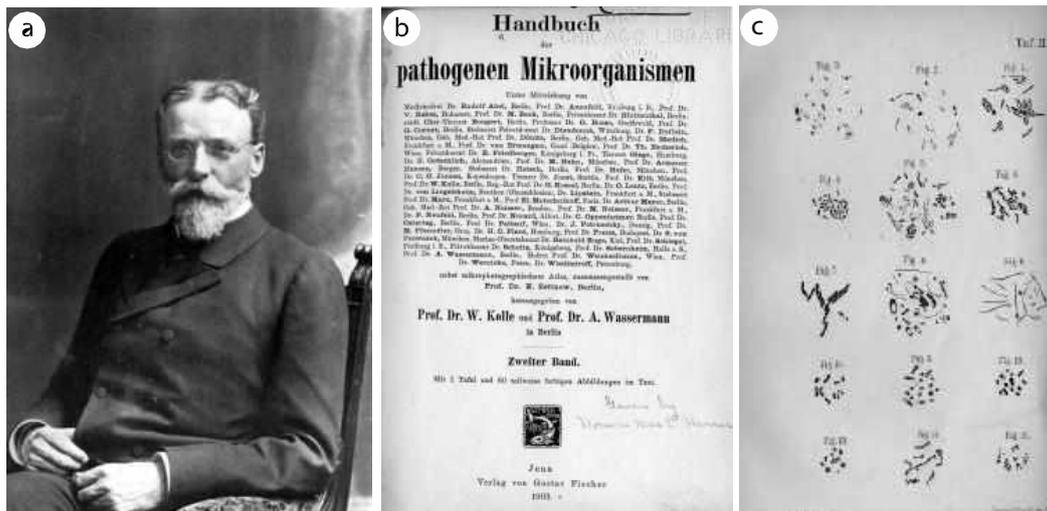


Figura 1. “Theodor Escherich y sus descubrimientos. a) “Escherich era joven, de aspecto distinguido y lucía una barba impresionante. Esto no era inusual en aquella época”: Béla Schick (1957, p. 114) en una conmovedora evocación de su maestro. b) Portada del volumen dos del exhaustivo “Handbook of Pathogenic Microorganisms” de cuatro volúmenes, 1903, editado por W. Kolle y A. Wassermann. c) Fotografías y algunas de las leyendas que las acompañan al final del libro de Escherich de 1886. Fig 4. *Bacterium coli commune* de un cultivo de papa de 6 días; formas predominantemente cortas y estrechas (ingeschnürte). Fig. 6. *Bacterium coli commune* de una colonia de placas de gelatina de 8 días (Gelatineplattencolonie); tipo bacilo fácilmente evidente. Fig. 7. *Bacilo subtilis*; un bacilo en la etapa de formación de esporas. Fig. 10. *Bacterium lactis aërogenes* de un tubo de ensayo de gelatina de 8 días. Todas las fotografías están ampliadas 970 veces, fueron tomadas por el Dr. Charles Workman de Belfast, un visitante del Laboratorio Bacteriológico del Instituto de Patología de Múnich, utilizando placas isocromáticas y copiadas fotográficamente (durch Lichtdruck vervielfältigt)”. Figura modificada de Friedmann, H. C. (2006). Escherich and Escherichia. *Advances in applied microbiology*, 60, 133-196., reimpresión con permiso de Elsevier.

1.3 Características

E. coli es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, puede tener flagelos que utiliza para moverse en su entorno, o que le permiten adherirse a superficies y a otras células (Figura 2). La bacteria mide aproximadamente entre 1.1 - 1.5 μm x 2 - 6 μm y se puede encontrar con mayor frecuencia en el intestino de humanos y algunos animales. Algunas cepas de *E. coli* pueden provocar infecciones entéricas o extraintestinales. Las infecciones entéricas que se acompañan de diarrea son la disentería, la colitis hemorrágica y la uremia hemolítica. Las infecciones extraintestinales son las infecciones del tracto urinario, las septicemias, la meningitis, la peritonitis, las infecciones pulmonares y la bacteriemia. (3, 4)

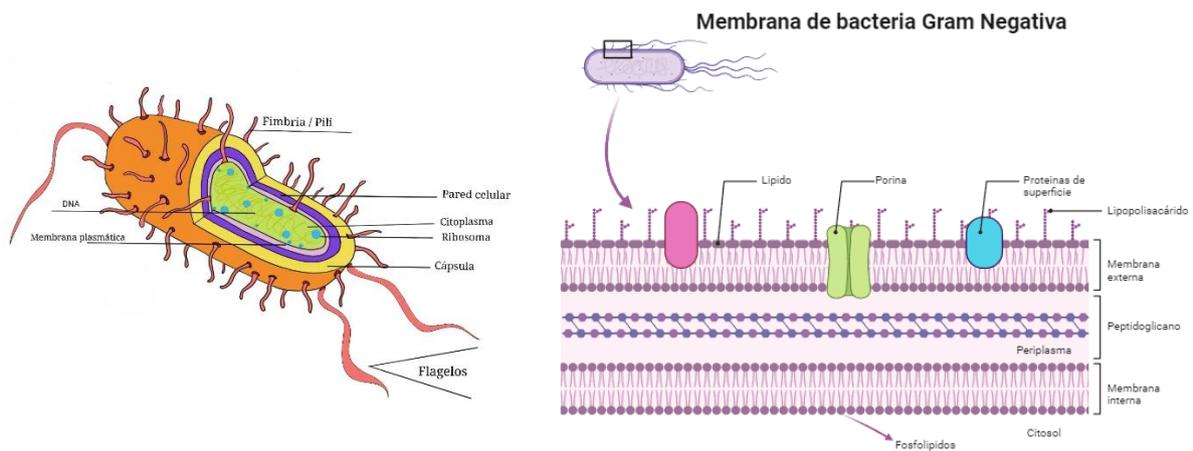


Figura 2. a) Esquema de la estructura de *E. coli*. En el esquema se observan los diferentes componentes de la bacteria. Fuente propia. **b) Esquema de la membrana de una bacteria Gram negativa.** En el esquema se observan sus diferentes componentes de la membrana. Fuente Propia.

1.4 Clasificación de cepas de *E. coli* con base en su patogenicidad

Las cepas de *E. coli* se clasifican en seis grupos con base en su mecanismo de patogenicidad y el cuadro clínico que presenta el paciente. La enterohemorrágica también conocida como productora de toxina vero o toxina semejante a Shiga (EHEC o VTEC o STEC), la enterotoxigénica (ETEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y adherencia difusa (DAEC) (ver Tabla 1). ^(5,6)

1.4.1 *E. coli* enterohemorrágica (EHEC)

En 1983, Riley y colaboradores describieron el cuadro clínico que produce la cepa de *E. coli* enterohemorrágica y lo denominaron “colitis hemorrágica”. Este cuadro se caracteriza por dolor abdominal, diarrea acuosa con presencia de sangre, con febrícula o sin fiebre. Este tipo de cuadro se presentaba en personas que habían consumido carne cruda o insuficientemente cocida. ⁽⁸⁾ En ese mismo año, Karmali y sus colaboradores relacionaron esta cepa de *E. coli* con casos aislados de síndrome urémico hemolítico. Este síndrome se caracteriza por daño renal agudo, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática. Los pacientes con este síndrome presentaron también episodios de diarrea con sangre. ⁽⁹⁾ Adicionalmente, Konowalchuk y colaboradores determinaron la

respuesta de células vero (células de riñón de mono verde africano) ante citotoxinas de *E. coli*. La cepa de *E. coli* verotoxigénicas (VTEC) se detectó en heces y produce una o varias exotoxinas que tienen efectos tóxicos sobre células vero, conocida como verotoxinas (VT). ⁽¹⁰⁾

Dentro de algunos de los mecanismos de patogenicidad más destacados de la cepa EHEC se encuentran el de la citotoxina STX (toxina Shiga) y el del fenómeno de adherencia. La citotoxina STX actúa a nivel de síntesis de proteínas ya que se une a la subunidad 60S de los ribosomas de las células intestinales o renales del hospedero. ⁽¹¹⁾

El tiempo de incubación de la cepa EHEC es de uno a ocho días. Clínicamente, en los primeros dos días de incubación de las bacterias se presenta diarrea sin sangre, vómito, dolor abdominal y fiebre. A partir del tercer día de presentar diarrea, ésta contiene sangre y el dolor abdominal se intensifica (Tabla 1).

1.4.2 *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)

La cepa enterotoxigénica se presenta desde los primeros seis meses de vida. Esta cepa se localiza principalmente en la mucosa del intestino delgado ya que se adhiere a las superficies a través de sus fimbrias con diversas formas a las que se les conoce como CFA (antígenos de factores de colonización, colonization factor antigens, por sus siglas en inglés). El principal mecanismo de patogenicidad es la síntesis de una o ambas enterotoxinas denominadas toxina termolábil (LT) y toxina termoestable (ST). Estos genes se encuentran en un plásmido que también puede contener información genética relacionada con los CFA. Las toxinas LT y ST incrementan las concentraciones intracelulares de guanósín monofosfato cíclico (GMPc) y adenosín monofosfato cíclico (AMPc), que están localizados en la membrana de las células intestinales, desencadenando la salida de iones y agua. ⁽⁴⁾

La infección que produce esta cepa tiene un tiempo de incubación de 14 a 50 horas, tanto los niños de edad escolar como adultos pueden no presentar síntomas. Clínicamente, se caracteriza esta infección por ser breve y presentar

diarrea sin sangre, moco o pus. Sin embargo, en casos aislados el paciente puede presentar fiebre y vómito, haciendo que el cuadro clínico se complique y la infección se torne grave. ^(6,7)

1.4.3 *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)

El mecanismo de patogenicidad de esta cepa es la invasión al epitelio del colon, por lo que para la adherencia a la mucosa requiere mucinasa y adhesinas de la bacteria, para después entrar por endocitosis a las células epiteliales, llevar a cabo multiplicación de la EIEC dentro de la células epiteliales y diseminación a células epiteliales sanas adyacentes. ⁽⁷⁾ El tiempo de incubación de esta cepa es de 24 a 96 horas. Clínicamente, se presenta diarrea acuosa con sangre y moco (ver Tabla 1).

1.4.4 *E. coli* enteropatógena (EPEC)

Su mecanismo de patogenicidad es la adherencia de la bacteria a la membrana de las células del epitelio del intestino, que prosigue a la destrucción de las microvellosidades de las células epiteliales. ⁽¹³⁾ Esta adherencia es mediada por fimbrias rizadas de la bacteria, y es necesaria la síntesis de una proteína de membrana externa llamada intimina que es codificada por genes regulados por el operon per (plasmid-encoded regulator). ⁽⁶⁾

El periodo de incubación de esta cepa es de 3 a 24 horas, en las primeras horas no se presentan síntomas. Esta cepa puede afectar a niños de entre 6 meses a 2 años. En adultos, solo afecta a los que tienen un factor predisponente como la diabetes. Clínicamente, produce diarrea aguda con moco, vómito, fiebre leve y mala absorción de los nutrientes como se describe en la Tabla 1.

1.4.5 *E. coli* enteroagregativa (EAEC)

En el mecanismo de patogenicidad de EAEC involucra la adherencia entre las mismas bacterias. Esta cepa tiene la capacidad de incrementar la producción y secreción de moco que atrapa a las bacterias y éstas se agrupan en una fina película en el epitelio intestinal. ⁽¹⁴⁾

El periodo de incubación dura de 6 a 8 horas y los síntomas pueden durar de 18 a 20 días. Clínicamente, se manifiesta frecuentemente en niños, en ellos se presentan cuadros de diarrea líquida, color verde, con moco, sin sangre y el cuadro va aumentando conforme pasan los días requiriendo rehidratación vía intravenosa (ver Tabla 1).⁽¹⁶⁾

1.4.6 *E. coli* de adherencia difusa (DAEC)

Se sabe poco de su mecanismo de patogenicidad. Sin embargo, dentro de las posibles características de algunos de los mecanismos se encuentran:^(17,18)

- Unión de adhesinas a la mucosa del intestino
- Formación de microcolonias típicas
- Producción de citotoxinas y enterotoxinas
- Inflamación de la mucosa

El periodo de incubación de esta cepa va de las 14 a 50 horas. Clínicamente, se puede observar diarrea aguda, acuosa sin sangre, moco o pus y en algunos casos se puede presentar fiebre o vómito (Tabla 1).⁽¹⁸⁾

1.5 Enfermedades asociadas a *E. coli* en México

Dado el potencial infeccioso de *E. coli* en países en desarrollo, las infecciones que produce se consideran uno de los más importantes problemas de salud pública, debido a la falta de diagnósticos apropiados y a los malos pronósticos.⁽¹⁹⁾

Las cepas diarreogénicas de *E. coli* suelen causar diarrea o enfermedad extraintestinal en sujetos comprometidos sistémicamente y sanos debido a la capacidad de transferir horizontalmente los genes, permitiendo mantener un conjunto particular de características que vuelven posible la sobrevivencia de la bacteria en el huésped.⁽¹⁹⁾

Tabla 1. Características de cepas de *E. coli*

CEPA	MECANISMO PATÓGENO	PERIODO DE INCUBACIÓN	SÍNTOMAS
EHEC	Citotoxinas STX1 y STX2	1 a 8 días	<ul style="list-style-type: none"> • Diarrea sin sangre en los primeros días • Dolor abdominal • Fiebre
ETEC	LT y ST	14 a 50 h	<ul style="list-style-type: none"> • Diarrea sin alguna secreción (sangre, moco, pus) • Fiebre • Vómito
EIEC	Invasión del epitelio del colon	24 a 96 h	<ul style="list-style-type: none"> • Diarrea acuosa con presencia de sangre y moco
EPEC	Adherencia	3 a 24 h	<ul style="list-style-type: none"> • Diarrea aguda • Vómito • Fiebre leve
EAEC	Adherencia agregativa	6 a 8 h	<ul style="list-style-type: none"> • Diarrea líquida de color verde con moco y sin sangre
DAEC	Adherencia difusa	14 a 50 h	<ul style="list-style-type: none"> • Diarrea acuosa sin sangre, moco o pus • Fiebre • Vómito

Abreviaturas: STX1: toxina Shiga tipo 1; STX2: toxina Shiga tipo 2; LT: toxina termolábil; ST: toxina termoestable.

La infección por *E. coli* puede ser adquirida a través del consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche sin pasteurizar, jugo de manzana sin pasteurizar, quesos blandos elaborados con leche contaminada, entre otros. Además, el contacto de persona a persona y el agua contaminada también son fuentes potenciales de exposición a *E. coli*. Algunos grupos de personas, como los adultos mayores, los niños menores de 5 años, las personas con el sistema inmunológico debilitado y las

mujeres embarazadas tienen un mayor riesgo de enfermarse por bacterias *E. coli*.⁽¹⁹⁾

Debido a la capacidad infecciosa de *E. coli*, se le ha relacionado con la enfermedad diarreica aguda (EDA) ya que se estima que esta enfermedad es la segunda causa única de muerte en menores de 5 años en países industrializados y en vía de desarrollo⁽²⁰⁾.

Se estima que aproximadamente el 30% de los alimentos para consumo humano están contaminados con cepas enteropatógenicas de *E. coli*.⁽²¹⁾

1.6 Fisiopatología

Normalmente, las cepas ETEC de *E. coli* colonizan el intestino delgado y comienzan la secreción de enterotoxinas provocando diarrea acuosa, sin sangre y con malestar abdominal, provocando en ocasiones fiebre, por lo que se sabe que esta cepa de *E. coli* suele ser la causa más común de diarrea en niños, así como la llamada “diarrea del viajero”.⁽⁴⁾

Por otro lado, las cepas EPEC, se adhieren a la mucosa intestinal, provocando aplanamiento de las vellosidades intestinales y desencadenado una lesión de “attaching-effacing” o adhesión y eliminación. Ésta es una lesión caracterizada por la adhesión de las bacterias a los enterocitos para la posterior destrucción de las microvellosidades del intestino, lo que desencadena una diarrea provocada por la mala absorción de los nutrientes. La enfermedad es más común en países en vías de desarrollo debido a la poca higiene y demás condiciones relacionadas con la pobreza.⁽¹⁹⁾

CAPITULO II

Cúrcuma y sus derivados

2.1 Historia

El nombre de cúrcuma se deriva del árabe antiguo *Kurkum* que significa azafrán, la cúrcuma o turmérico es una planta herbácea perenne con diversos rizomas en forma de cilindros de color amarillo o naranja y están cubiertos por una cáscara color marrón. Sus hojas alargadas se dividen en dos hileras desde la vaina de la hoja, sus flores son zigomorfas y van desde el color blanco al rosado. La cúrcuma pertenece a la familia de las Zingiberaceas, esta planta es nativa del suroeste de la India y la de la zona meridional de Vietnam. Sin embargo, se puede encontrar en algunas islas del pacífico como, Samoa, Tuvalu, Rapa Nui, Ronga, etc. Mide aproximadamente de 76 a 185 cm de largo y de 38 a 45 cm de ancho y se desarrolla a una temperatura de 20 a 30°C. ⁽²²⁾

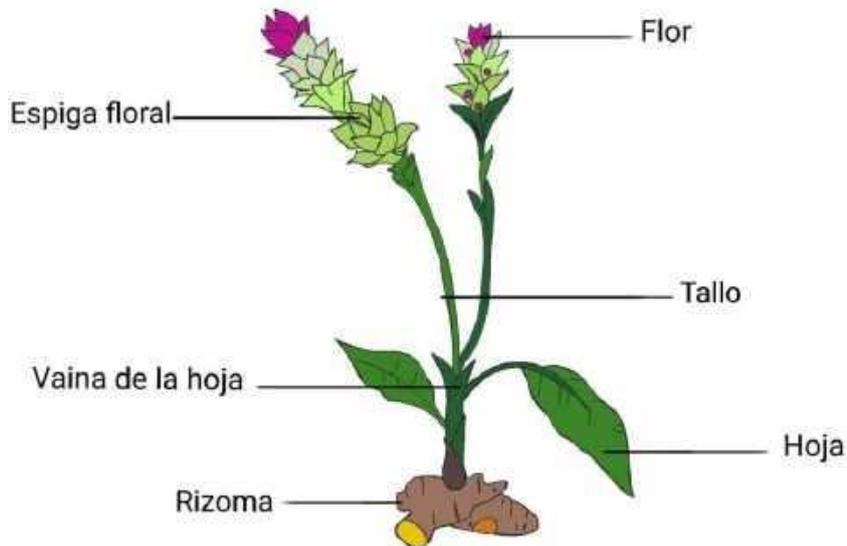


Figura 3. Esquema de la planta *Curcuma longa*. Fuente propia.

El primer uso de la cúrcuma registrado fue entre 610 a. C y 320 a. C, en estos años se utilizaba como colorante de lana, como condimento y como parte de rituales religiosos y ceremonias. Con el tiempo, la cúrcuma se expandió hacia otras regiones de Asia, África y el Medio Oriente, convirtiéndose en un elemento fundamental en la gastronomía, usándose como especia. También se usaba en la medicina tradicional como purificador de sangre, y para tratar afecciones hepáticas, ictericia, trastornos artríticos, musculares, tos, heridas provocadas por diabetes, sinusitis, etc. Actualmente, en África Occidental, se sigue utilizando como tinte para cuero curtido, telas de algodón hilos y fibra de palma. ⁽²²⁾

2.2 Taxonomía

Dominio: Plantae
Filo: Magnoliophyta
Clase: Liliopsida
Orden: Zingiberales
Familia: Zingiberaceae
Género: Curcuma
Especie: *Cúrcuma longa*

2.3 Composición química

El color de la cúrcuma se debe a la presencia de compuestos fenólicos del grupo de los curcuminoides, derivados diarilheptanoides. Algunos de los curcuminoides que constituyentes en planta son: curcumina (diferuloilmetano) con una proporción en la planta del 77%, desmetoxicurcumina en proporción en la planta de 17%, bis-desmetoxicurcumina en un 3%, adicionalmente se ha identificado la ciclocurcumina. ⁽²³⁾

La curcumina (Figura 4), cuya fórmula química es $C_{21}H_{20}O_6$ es un estilbenoide y un diarilheptanoide derivado de la ruta de Shikimato/Acetato-malonato. ⁽²³⁾

Algunas características de la curcumina son:

- Estructura: La curcumina es un diarilheptanoide que pertenece al grupo de los curcuminoides, fenoles de origen natural responsables del color amarillo intenso característico.
- Forma: Existen al menos dos formas de la curcumina, ambas como taútomeros: la ceto y la enol.
- Solubilidad: La curcumina es insoluble en agua, pero soluble en etanol y ácido acético

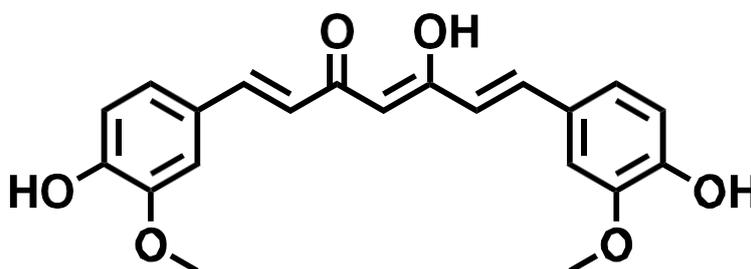


Figura 4. Estructura química de la curcumina

El rizoma de la cúrcuma contiene aceites que tienden a evaporarse de forma rápida, éstos representan un 5% de la composición total. Los compuestos responsables del aroma característico de la cúrcuma son los terpenoides. La especie presenta sesquiterpenos cetónicos como la α -turmerona, isómeros α -turmerona (atlantona) y β -turmerona (curlona) y zingibereno. ⁽²⁴⁾

La α -turmerona es el compuesto responsable de la actividad alelopática de la cúrcuma, y se le ha asociado a la auto reparación y recuperación de la función cerebral en casos de enfermedades neurodegenerativas ⁽²⁵⁾, mientras que el zingibereno es un sesquiterpenoide bisabolano, un lípido formado a partir del trans-farnesil difosfato por la zingibereno sintasa. ⁽²⁶⁾

2.4 Curcumina

La curcumina, los curcuminoides y sus complejos metálicos ejercen diferentes propiedades biológicas. Los complejos metálicos suelen mostrar una mayor actividad biológica que la molécula original. Se ha demostrado que la actividad

biológica de complejos metálicos curcuminoides con zinc o magnesio sobresalen con respecto a sus ligantes predecesores. ⁽²³⁻²⁷⁾

2.5 Usos terapéuticos

- Propiedades analgésicas: En el 2013 Di Pierro y colaboradores realizaron un estudio en 15 pacientes que padecían dolor neuropático, osteoartritis, dolor muscular, etc. A la mitad de un grupo se les proporcionaron tabletas de acetaminofén de 1 g mientras que la otra mitad del grupo fue tratado con 400 mg de un complejo de curcumina con lecitina, dando por conclusión que la curcumina presentaba un efecto analgésico similar al del acetaminofén. ⁽²⁸⁾
- Efectos antioxidantes: En 1994 Bosman demostró el efecto inhibidor de la curcumina sobre el metabolismo del ácido araquidónico, mostrando efectos beneficiosos en lesiones de la piel como la psoriasis. ⁽²⁹⁾
- Beneficios para la salud digestiva: Rafatullah et al, comprobaron el efecto protector frente a las úlceras gástricas y de duodeno en ratas en 1990 ⁽³⁰⁾, mientras que en 1997 Munzenmaier et al. comprobaron que la curcumina inhibe la producción de IL-8 inducida por el *Helicobacter pylori* la cual juega un importante papel en el desarrollo de gastritis. ⁽³¹⁾
- Propiedad hepatoprotectora: Un estudio realizado en 1994 por Hussian y Chandraseskhara mostró que la cúrcuma y curcumina aumentan el flujo de bilis, al igual que los aceites esenciales de este extracto. ⁽³²⁾ En 1957 Ramprasad y Siri encontraron que el curcuminato de sodio en dosis bajas disminuye la cantidad de sólidos en la bilis, por el contrario, a altas dosis, la excreción de sales biliares, bilirrubina y colesterol incrementa.

2.6 Derivados curcuminoides.

La curcumina no es el único derivado activo, también contiene otros compuestos conocidos como curcuminoides. Estos incluyen la desmetoxicurcumina y la bis-

desmetoxicurcumina, aunque se presentan en menor cantidad, contribuyen a las propiedades medicinales de la cúrcuma. La combinación sinérgica de estos curcuminoides parece potenciar los efectos beneficiosos, lo que subraya la importancia de considerar la cúrcuma en su totalidad y no solo a través de un solo metabolito (curcumina).⁽³³⁾

La presencia de estos curcuminoides ofrece un panorama más completo y matizado de los beneficios que la cúrcuma puede ofrecer. La combinación sinérgica de la curcumina con los curcuminoides sugiere que la potencia terapéutica de la cúrcuma no puede explicarse únicamente por la acción de un solo componente. En cambio, es la interacción y cooperación de estos diversos compuestos lo que crea un efecto conjunto, mejorando y amplificando sus impactos beneficiosos en el cuerpo humano.⁽³⁴⁾

La desmetoxicurcumina (Figura 5), específicamente, ha demostrado tener propiedades antiinflamatorias, lo que la convierte en un valioso contribuyente a las capacidades antiinflamatorias generales de la cúrcuma. Por otro lado, la bis-desmetoxicurcumina (Figura 5), aunque presente en cantidades aún menores, ha mostrado propiedades antioxidantes que pueden complementar y reforzar la capacidad de la cúrcuma para contrarrestar el estrés oxidativo.⁽³³⁾

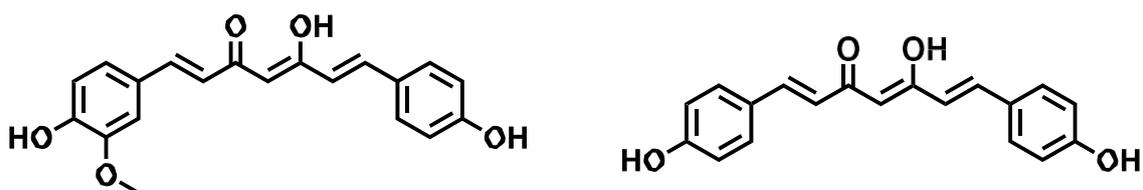


Figura 5. Estructura química de la desmetoxicurcumina y la bis-desmetoxicurcumina respectivamente.

CAPITULO III

Sinergia de la curcumina con antibióticos y mecanismos de acción

La curcumina o diferuloilmetano posee una amplia gama de efectos beneficiosos para la salud, lo que ha llevado a diversos investigadores a profundizar más en sus efectos, entre ellos, su posible propiedad antimicrobiana. Debido al mal empleo de antibióticos, la resistencia bacteriana es una preocupación mayor, lo que ha provocado la búsqueda de agentes terapéuticos alternativos para combatir diversas infecciones.³⁴

La resistencia a los antibióticos es un problema creciente que amenaza la salud pública global. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la resistencia microbiana ha llevado a la búsqueda de innovadoras alternativas para su contención. En este sentido, el desarrollo de nuevos antibióticos es fundamental para abordar esta amenaza y evitar un futuro sin opciones efectivas para tratar enfermedades infecciosas. La falta de fármacos innovadores nos deja vulnerables frente a la resistencia microbiana, lo que hace que sea crucial encontrar soluciones efectivas para este problema.⁽³⁵⁾

Los efectos antibacterianos sinérgicos entre antibióticos son fenómenos microbiológicos estrictamente definidos, y es necesario que dos agentes bioactivos muestren un mayor efecto en la destrucción de bacterias que los efectos agregados de cada componente.⁽³⁶⁾

Varios estudios han demostrado que la curcumina posee efectos antibacterianos sinérgicos cuando se combina con antibióticos tradicionales, productos naturales o metales. En el caso de los antibióticos tradicionales se ha visto este efecto en combinación con polimixinas, meropenem, oxacilina, tetraciclina, ciprofloxacino, ampicilina y norfloxacino. En su combinación con productos naturales como el galato de epigalocatequina y la berberina o en combinación con metales como cobre, zinc y hierro.⁽²⁷⁻³³⁾

La combinación de cúrcuma con antibióticos puede ser segura y potencialmente beneficiosa debido a las propiedades antimicrobianas de la

curcumina. La curcumina ha demostrado combatir cepas de bacterias como: estreptococos, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, así como inhibir la proliferación de algunos hongos o levaduras como *Candida albicans*.⁽³⁴⁾

3.1 Mecanismos de acción

La curcumina ha demostrado actividad antimicrobiana sobre bacterias Gram positivas, una explicación brindada por Domínguez Trejo es que la curcumina actúa induciendo la producción de especies reactivas de oxígeno reducido en las bacterias lo que provoca directamente el daño en proteínas, lípidos y material genético.⁽³⁷⁾

Otros mecanismos de acción, principalmente de la curcumina, incluyen:

- Disrupción de la membrana celular
- Inhibición de la división celular
- Inducción de estrés oxidativo y apoptosis
- Fototoxicidad (capacidad de causar daños a bacterias al ser expuestas a la luz)
- Interferencias en el metabolismo bacteriano.
- Regulación de la proliferación bacteriana intracelular.

Otra hipótesis basada en los resultados de Tyagi y colaboradores es que la curcumina (97% de pureza) a una concentración de 100 μM puede inducir permeabilización de las paredes de microorganismos como *S. aureus* y *E. coli*. Mediante las técnicas de citometría de flujo y fluorescencia en estado estacionario se ha demostrado el efecto directo sobre la destrucción de bacterias Gram negativas y positivas ya que al aumentar la permeabilización de la membrana de las bacterias también aumentaría la absorción de otros fármacos, lo que explicaría el efecto sinérgico de la antibioterapia en conjunto con la curcumina.⁽³⁸⁾

ANTECEDENTES

La cúrcuma ha sido utilizada por siglos en la medicina tradicional especialmente en países de Asia. En la medicina ayurveda (medicina tradicional de la India) se considera que la cúrcuma tiene propiedades medicinales y se utiliza para tratar una variedad de condiciones, incluyendo enfermedades infecciosas y dolorosas. La cúrcuma se ha utilizado para tratar condiciones como la artritis, la infección de la piel y las infecciones respiratorias, entre otras.⁽⁴¹⁾

Los derivados del rizoma de cúrcuma, como son la curcumina han demostrado una amplia gama de propiedades antimicrobianas y antifúngicas. La curcumina, en particular, ha sido estudiada extensivamente por sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas. Se ha demostrado que inhibe el crecimiento de bacterias y hongos, y que puede ser utilizada para tratar infecciones causadas por estos microorganismos.⁽³⁴⁾

La curcumina actúa inhibiendo el crecimiento de bacterias y hongos mediante varios procesos. Uno de los más importantes es la inhibición de la síntesis de la pared celular, lo que impide el crecimiento y la supervivencia de algunos microorganismos. Además, la curcumina también puede inhibir la producción de enzimas bacterianas, así como la adhesión bacteriana, lo que reduce la capacidad de las bacterias para colonizar y causar infecciones.⁽³⁴⁾

Los complejos metálicos derivados de los curcuminoides fueron sintetizados debido a los beneficios previamente conocidos de metales y su acción fisiológica, ya que el magnesio funciona como una coenzima en la síntesis de ácidos nucleicos, o el zinc que participa como regulador de la apoptosis mitocondrial.⁽⁴⁰⁾

Las concentraciones utilizadas se determinaron recurriendo a los resultados experimentales previos obtenidos en el estudio de Meza *et. al.* (2019) donde se utilizaron derivados sintéticos de los curcuminoides, y se evaluó el efecto de cuatro complejos metálicos de diacetilcurcumina (DAC) con magnesio, zinc, cobre y manganeso frente a las líneas cancerígenas celulares: HCT-15, MCF-7 y SKLU-1 pertenecientes a carcinoma colorrectal, de mama y pulmonar, respectivamente.⁽⁴⁰⁾

Los complejos metálicos de diacetilcurcumina (DAC) resultaron citotóxicos y mostraron una concentración inhibitoria media (IC₅₀) comparable a cisplatino frente a las líneas celulares mencionadas anteriormente de la siguiente forma: (Pasa la tabla a español, pon la columna como compuestos y Cisplatin debe cambiarse a cisplatino)

Tabla 1. Valores de IC₅₀ para DAC y sus complejos metálicos.

Compounds	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
DAC (1)	22.32 ± 3.0	21.79 ± 5.0	14.07 ± 3.3
(DAC) ₂ Mg (2)	11.59 ± 1.97 *	5.72 ± 0.31 *	8.87 ± 1.56 *
(DAC) ₂ Zn (3)	7.21 ± 0.61 *	4.92 ± 0.071 *	4.74 ± 0.31 *
(DAC) ₂ Mn (5)	15.54 ± 1.94 *	13.46 ± 1.63 *	9.23 ± 1.22 *
Cisplatin	10.0 ± 0.9 *	9.4 ± 1.0 *	4.3 ± 0.5 *

Meza-Morales, W., *et.al.* (2019). Full structural characterization of homoleptic complexes of diacetylcurcumin with Mg, Zn, Cu, and Mn: Cisplatin-level Cytotoxicity *in Vitro* with Minimal Acute Toxicity *in Vivo*. *Molecules*, 24(8), 1598, página 11.

Por otro lado, las concentraciones citotóxicas medias (CC50) del complejo metálico de dimetoxicurcumina con magnesio y formulado con beta-ciclodextrina se determinaron recurriendo a las observaciones previas (Obregón et al (2024)) mediante un estudio *in ovo* frente a células MDA-MB-231, es decir, células de cáncer de mama, donde se determinaron que los derivados sintéticos son benéficos para el tratamiento de cáncer de mama y se llegó a establecer que actúan en concentraciones que se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. CC50 (µM) para Dimetoxicurcumina y sus complejos metálicos.

CC50 (µM) en la línea celular de cáncer ante DiMeOC y sus complejos	
Compuesto	MDA-MB-231
DiMeOC	>100
DiMeOC-Mg	22.04 ± 0.06
DiMeOC-Mg-BCD	10.73 ± 0.1

Obregón M. et.al. ,(2024). The Antitumoral Effect *In Ovo* of a New Inclusion Complex from Dimethoxycurcumin with Magnesium and Beta-Cyclodextrin. *International Journal of Molecular*

Con base en las concentraciones inhibitorias medias (IC50) y las concentraciones citotóxicas medias (CC50) resultantes de los experimentos anteriores se determinaron que las concentraciones a utilizar en este estudio se encuentran en los rangos de 18 μ M y 3 μ M.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las infecciones por *E. coli* se han convertido en un grave problema de salud pública, dada su gran capacidad de adquirir resistencia a muchos antibióticos. En la búsqueda de compuestos naturales con propiedades antimicrobianas encontramos que los componentes químicos de cúrcuma o turmérico poseen propiedades antibióticas. Por lo que se ha seleccionado la molécula de curcumina ya que posee una amplia actividad biológica antes registrada. A partir de esta selección se han desarrollado derivados (sintéticos) de curcumina, y dado que no se han analizado con anterioridad frente a microorganismos patógenos se ha planteado examinar el efecto de estos compuestos sobre el crecimiento o inhibición de *E. coli*.

JUSTIFICACIÓN

Los compuestos presentes en el rizoma de cúrcuma representan un interés científico como potenciales agentes terapéuticos para hacer frente a varias dolencias humanas. Se han reportado mediante estudios *in vivo* e *in vitro* que la cúrcuma y la curcumina tienen efectividad frente a diversas patologías, pero con respecto a los derivados (sintéticos) existe un amplio campo de investigación que aún no se ha cubierto.

HIPÓTESIS

Los derivados sintéticos que presentan una estructura química análoga a la curcumina muestran una actividad inhibitoria frente a bacterias patógenas como es *E. coli*.

OBJETIVO GENERAL

Medir la inhibición del crecimiento de *E. coli* ante la exposición de diferentes derivados sintéticos de la curcumina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Medir la inhibición del crecimiento de *E. coli* causada por Diacetilcurcumina-magnesio formulado con beta-ciclodextrina (DAC-Mg-BCD) a las concentraciones de 18 μM , 10 μM , 5.6 μM , 3.1 μM .

Medir la inhibición del crecimiento de *E. coli* causada por Diacetilcurcumina-zinc formulado con beta-ciclodextrina (DAC-Zn-BCD) a las concentraciones de 18 μM , 10 μM , 5.6 μM , 3.1 μM .

Medir la inhibición del crecimiento de *E. coli* causada por Dimetoxicurcumina-magnesio formulado con beta-ciclodextrina (DiMeOC-Mg-BCD) a las concentraciones de 18 μM , 10 μM , 5.6 μM , 3.1 μM .

Medir la inhibición del crecimiento de *E. coli* causada por curcumina a las concentraciones de 18 μM , 10 μM , 5.6 μM , 3.1 μM .

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

- Cepa: *Escherichia coli* ATCC 33780.
- Compuestos:
 - 1) DMSO (vehículo de dilución de los compuestos)
 - 2) Clorhexidina (2%)
 - 3) Diacetilcurcumina-zinc formulado con beta-ciclodextrina (DAC-Zn-BCD): 18 μM , 10 μM , 5.6 μM , 3.1 μM .
 - 4) Dimetoxicurcumina-magnesio formulado con beta-ciclodextrina (DiMeOCMg-BC): 18 μM , 10 μM , 5.6 μM , 3.1 μM .
 - 5) Diacetilcurcumina-magnesio formulado con beta-ciclodextrina (DAC-Mg-BCD): 18 μM , 10 μM , 5.6 μM , 3.1 μM .
 - 6) Curcumina: 18 μM , 10 μM , 5.6 μM , 3.1 μM (grupo control de curcuminoides).
- Consumibles
 - 1) Cajas de Petri con agar nutritivo

- 2) Discos de filtro estériles
 - 3) Encendedor
 - 4) Cinta adhesiva
 - 5) Jeringa Viarclean Up Clorhexidina al 2%
- Equipos
 - 1) Incubadora a 37°C
 - 2) Asa bacteriológica
 - 3) Mechero
 - 4) Pipeta de plástico
 - 5) Marcador rojo de cera
 - 6) Micropipeta y puntas estériles
 - 7) Pinzas de curación estériles
 - 8) Incubador

Métodos

1) Ensayo de Inhibición

a) Siembra

Antes de empezar el experimento, los discos de filtro fueron esterilizados y la mesa de trabajo se limpió con etanol al 70% para generar un área estéril. Para realizar el ensayo de inhibición se utilizaron cajas de Petri con agar nutritivo. Cada caja de Petri se dividió en 6 partes, numeradas del 1 al 6, usando un marcador de cera, donde se colocaron cada uno de los discos de filtro embebidos con su respectivo compuesto (Figura 6).

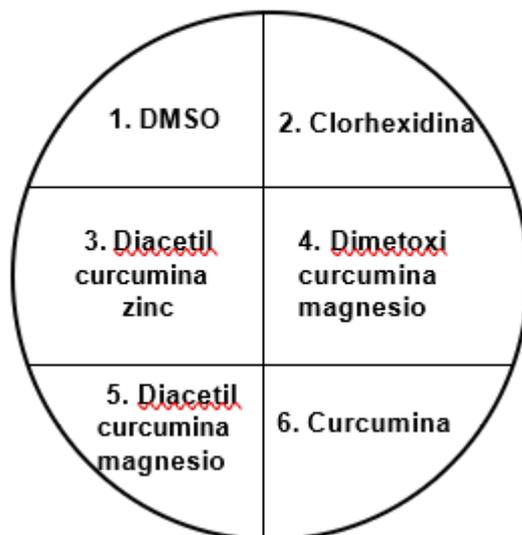


Figura 6. Distribución de compuestos en las cajas de Petri. La caja de Petri se dividió en seis espacios. En cada espacio se especifica el compuesto que se colocó en el papel filtro.

El asa bacteriológica se esterilizó en el mechero. Con cuidado, cerca del mechero, se abrió la caja Petri y se enfrió el asa en el agar. 100 μ L de la cepa de *E. coli* (1×10^8 células/mL) se agregaron en cada caja y fueron sembrados con la técnica de estría masiva.

b) Aplicación de discos de filtro con compuestos

Cada compuesto fue preparado y guardado en microtubos tubos de 1.5 mL. En el área estéril, se colocaron 15 μ L del primer compuesto en un Parafilm desinfectado y una pinza de curación estéril, se tomó un disco de papel filtro y se puso en el compuesto que se absorbió por capilaridad. Con sumo cuidado, el disco se colocó en la posición que le correspondía en la placa de agar (Figura 6). Se repitió este procedimiento con cada uno de los compuestos y cada una de las diluciones. Cada caja Petri se rotuló con los datos del compuesto, la fecha y la hora.

c) Incubación y observaciones

Los cultivos se colocaron en la incubadora a 37 °C. La inhibición del crecimiento fue evaluada a las 24, 48 y 72 horas, utilizando un campo estéril. Fotografías de cada caja y una regla fueron tomadas en cada tiempo.

d) Medición

Para medir la inhibición del crecimiento de *E. coli* se utilizó el programa "Image J", se usó como referencia una fotografía de una caja de Petri en un fondo luminoso, con ayuda de una regla milimétrica se midió la escala con ayuda del programa (Figura 7a).

Para configurar la escala, se utilizó la herramienta "Analyze" en la opción Set Scale. (Figura 7b) y en el apartado "Known distance" se colocó la referencia, Se colocó 1 centímetro (Figura 7c), en la imagen se trazó una línea apoyándonos en la regla para conocer su longitud exacta (Figura 7d). Ya que la regla digital estuvo calibrada, se llevó a cabo las mediciones de los halos de inhibición presentes en cada una de las cajas de Petri, midiendo desde el disco con clorhexidina hasta la colonia más cercana. Y presionando la tecla control + M se sacará en resultado de la medición. (Figura 7e)

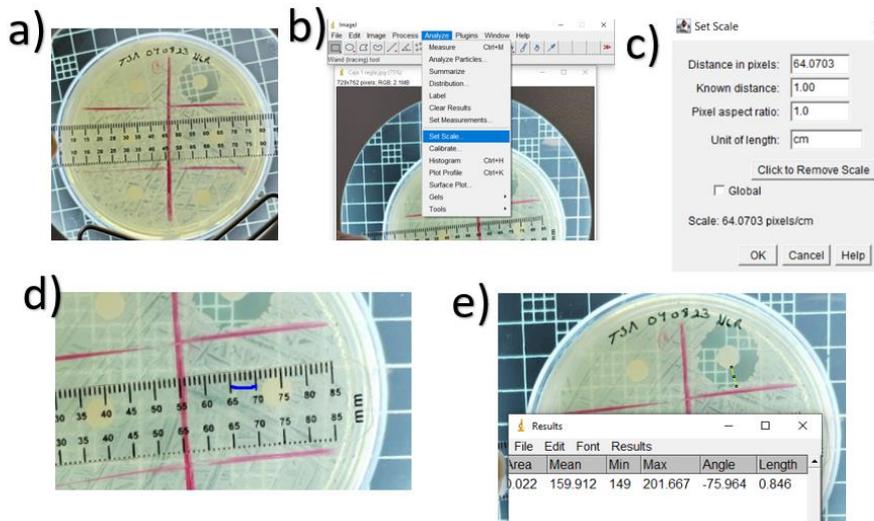


Figura 7. a) Fotografía de la caja de Petri con regla milimétrica. b) Fotografía del programa Image J seleccionando Analyze y posteriormente Set scale. c) Foto del programa Image J en el apartado Set Scale ajustar la medición de 1.0 cm. d) Línea trazada en la imagen de la caja de Petri. e) Medición del disco de clorhexidina a la colonia más cercana y resultado de la medición

RESULTADOS

La concentración de 18 μM de los derivados sintéticos de curcumina, curcumina y DMSO no muestra inhibición del crecimiento de *E. coli*.

Para evaluar la inhibición del crecimiento de *E. coli* a la concentración de 18 μM de diacetilcurcumina zinc formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 3), dimetoxicurcumina magnesio formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 4), diacetilcurcumina magnesio formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 5) y curcumina (Figura 6, espacio 6), así como el vehículo DMSO (Figura 6, espacio 1) se colocaron discos de filtro con dichas sustancias sobre cajas con cultivo por estría masiva de *E. coli*. Ninguno de los compuestos promovió inhibición del crecimiento a las 24 horas (Figura 8a), 48 horas (Figura 8b) y 72 horas (Figura 8c). Como control positivo se utilizó Clorhexidina al 2% (Figura 6, espacio 2), que sí inhibió el crecimiento de *E. coli* desde las 24 horas con un halo de inhibición de 4.67 mm (Figura 8a). A las 48 horas, el halo permaneció con una inhibición similar de 4.69 mm (Figura 8b) y para las 72 horas, el halo fue de 4.71 mm (Figura 8c).

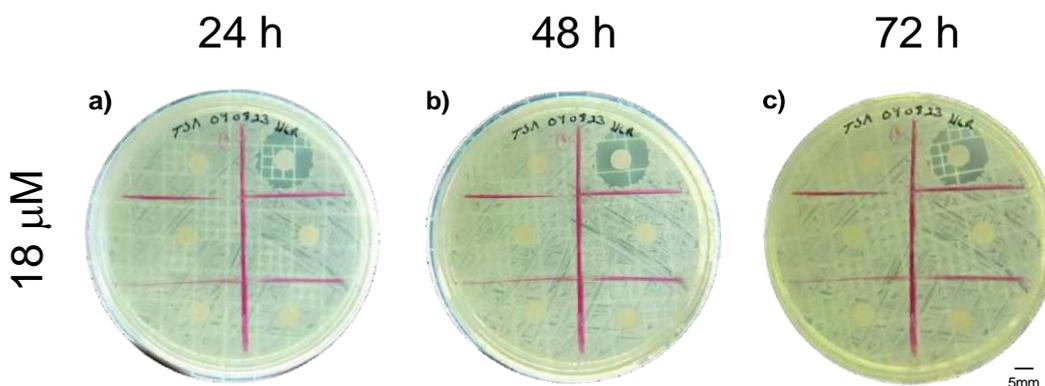


Figura 8. Inhibición del crecimiento de *E. coli* usando compuestos a una concentración de 18 μM . Caja a las 24 horas (Figura 8a), Caja a las 48 horas (Figura 8b), Caja a las 72 horas (Figura 8c).

La concentración de 10 μM de los derivados de curcumina, curcumina y DMSO no muestra inhibición del crecimiento de *E. coli*.

Para evaluar la inhibición del crecimiento de *E. coli* a la concentración de

10 μ M de diacetylcurcumina zinc formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 3), dimetoxicurcumina magnesio formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 4), diacetylcurcumina magnesio formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 5) y curcumina (Figura 6, espacio 6), así como el vehículo DMSO (Figura 6, espacio 1) se colocaron discos de filtro con dichas sustancias sobre cajas con cultivo por estría masiva de *E.coli*. Ninguno de los compuestos promovió inhibición del crecimiento a las 24 horas (Figura 9a), 48 horas (Figura 9b) y 72 horas (Figura 9c). Como control positivo se utilizó Clorhexidina al 2% (Figura 6, espacio 2), que sí inhibió el crecimiento de *E. coli* desde las 24 horas con un halo de inhibición de 5.02 mm (Figura 9a). A las 48 horas, el halo permaneció con una inhibición similar de 5.12 mm (Figura 9b) y para las 72 horas, el halo fue de 5.15 mm (Figura 9c).

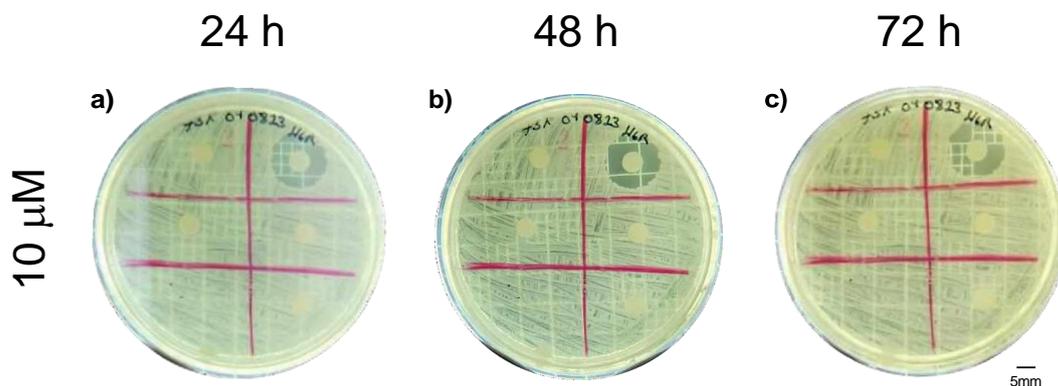


Figura 9. Inhibición del crecimiento de *E. coli* usando compuestos a una concentración de 10 μM Caja a las 24 horas (Figura 9a), Caja a las 48 horas (Figura 9b), Caja a las 72 horas (Figura 9c).

La concentración de 5.6 μM de los derivados de curcumina, curcumina y DMSO no muestra inhibición del crecimiento de *E. coli*.

Para evaluar la inhibición del crecimiento de *E. coli* a la concentración de 5.6 μM de diacetylcurcumina zinc formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 3), dimetoxicurcumina magnesio formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 4), diacetylcurcumina magnesio formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 5) y curcumina (Figura 6, espacio 6), así como el vehículo DMSO (Figura 6, espacio 1) se colocaron discos de filtro con dichas sustancias sobre cajas con cultivo por estría masiva de *E. coli*. Ninguno de los compuestos promovió inhibición del crecimiento a las 24 horas (Figura 10a), 48 horas (Figura 10b) y 72 horas (Figura 10c). Como control positivo se utilizó Clorhexidina al 2% (Figura 6, espacio 2), que sí inhibió el crecimiento de *E. coli* desde las 24 horas con un halo de inhibición de 4.89 mm (Figura 10a). A las 48 horas, el halo permaneció con una inhibición similar de 4.92 mm (Figura 10b) y para las 72 horas, el halo fue de 4.92 mm (Figura 10c).

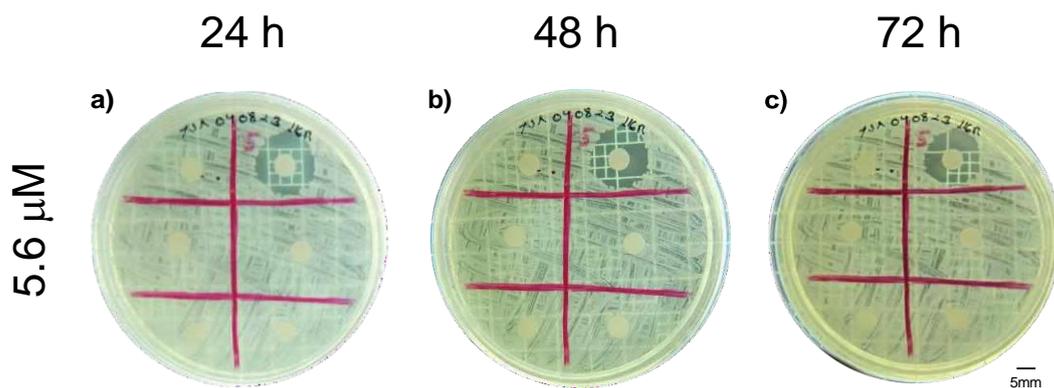


Figura 10. Inhibición del crecimiento de *E. coli* usando compuestos a una concentración de 5.6 μM. Caja a las 24 horas (Figura 10a), Caja a las 48 horas (Figura 10b), Caja a las 72 horas (Figura 10c).

La concentración de 3.1 μM de los derivados de curcumina, curcumina y DMSO no muestra inhibición del crecimiento de *E. coli*.

Para evaluar la inhibición del crecimiento de *E. coli* a la concentración de 3.1 μM de diacetylcurcumina zinc formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 3), dimetoxicurcumina magnesio formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 4), diacetylcurcumina magnesio formulado con beta-ciclodextrina (Figura 6, espacio 5) y curcumina (Figura 6, espacio 6), así como el vehículo DMSO (Figura 6, espacio 1) se colocaron discos de filtro con dichas sustancias sobre cajas con cultivo por estría masiva de *E. coli*. Ninguno de los compuestos promovió inhibición del crecimiento a las 24 horas (Figura 11a), 48 horas (Figura 11b) y 72 horas (Figura 11c). Como control positivo se utilizó Clorhexidina al 2% (Figura 6, espacio 2), que sí inhibió el crecimiento de *E. coli* desde las 24 horas con un halo de inhibición de 4.90 mm (Figura 11a). A las 48 horas, el halo permaneció con una inhibición similar de 4.92 mm (Figura 11b) y para las 72 horas, el halo fue de 4.92 mm (Figura 11c).

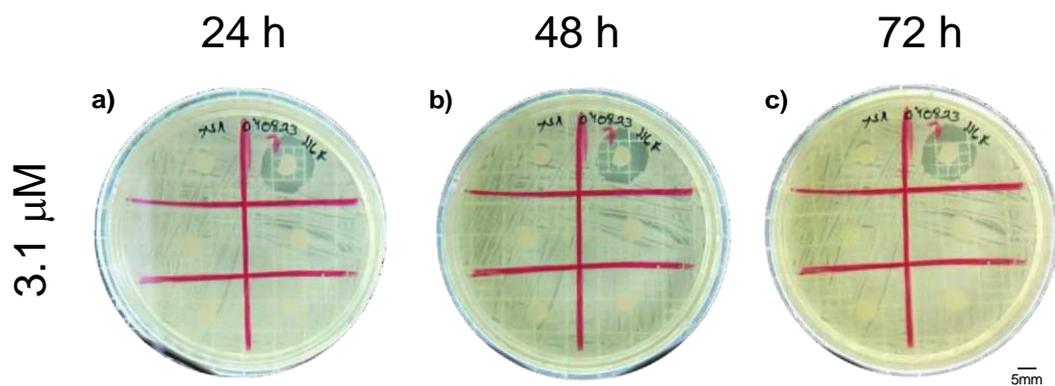


Figura 11. Inhibición del crecimiento de *E. coli* usando compuestos a una concentración de 3.1 μ M. Caja a las 24 horas (Figura 11a), Caja a las 48 horas (Figura 11b), Caja a las 72 horas (Figura 11c).

Tabla 2. Inhibición del crecimiento de *E. coli* por compuestos

Concentración (μ M)	Tiempo (h)	Inhibición mm					
		DMSO	Clorhexidina	DAC-Zn-BCD	DiMeOC-Mg-BCD	DAC-Mg-BCD	Curcumina
18	24	0	4.645	0	0	0	0
18	48	0	4.655	0	0	0	0
18	72	0	4.675	0	0	0	0
10	24	0	5.02	0	0	0	0
10	48	0	5.07	0	0	0	0
10	72	0	5.1	0	0	0	0
5.6	24	0	4.695	0	0	0	0
5.6	48	0	4.73	0	0	0	0
5.6	72	0	4.73	0	0	0	0
3.1	24	0	4.95	0	0	0	0
3.1	48	0	4.96	0	0	0	0
3.1	72	0	4.96	0	0	0	0

DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo fue conocer si los compuestos sintéticos derivados de curcumina, diacetylcurcumina-magnesio-BCD, diacetylcurcumina-zinc-BCD y dimetoxycurcumina-magnesio-BCD inhiben el crecimiento de *Escherichia coli*. Una bacteria Gram negativa asociada a múltiples enfermedades gastrointestinales.

Los resultados experimentales mostraron que estos compuestos sintéticos no inhiben el crecimiento de *E. coli*, al menos en las condiciones y concentraciones usadas (18 μM - 3.1 μM). Las razones que podrían explicar estos resultados son que las concentraciones utilizadas no se encuentran en el rango para obtener el efecto inhibitorio esperado contra la cepa de *E. coli*.

En un reciente estudio que evaluó la actividad antimicrobiana de complejos de curcumina con zinc, níquel, magnesio y cobre frente a bacterias Gram negativas y Gram positivas, se señala que los complejos de curcumina con zinc y níquel exhibieron una actividad antimicrobiana significativa contra algunas bacterias Gram positivas, mientras que los complejos con magnesio y cobre no mostraron actividad antimicrobiana.⁽³⁷⁾ En este experimento, se prepararon los complejos metálicos de curcumina utilizando una concentración de 10 μM de curcumina disuelta en 5 mL de NaOH, a la cual se le añadieron progresivamente las sales metálicas (Cu (CH₃COO)₂, Zn (CH₃COO)₂, MgCl₂, NiCl₂).

Los derivados sintéticos que se analizaron en esta investigación fueron modificados químicamente mediante el reemplazo de los grupos fenólicos que son los responsables de la actividad biológica de la molécula de curcumina, con grupos acetatos (CH₃COO, DAC) y grupos metoxilos (CH₃O). Posteriormente, se realizaron los complejos metálicos con acetatos metálicos de zinc y magnesio, además se formularon con beta-ciclodextrina (BCD) para aumentar la solubilidad acuosa. Aunque, estructuralmente son compuestos análogos se ha encontrado que la actividad antimicrobiana ha sido bloqueada a las concentraciones analizadas, este resultado sugiere que la molécula de curcumina debe utilizarse de manera prístina cuando se realizan los complejos metálicos como lo que ha

sido reportado por Angulo C., 2023. (37)

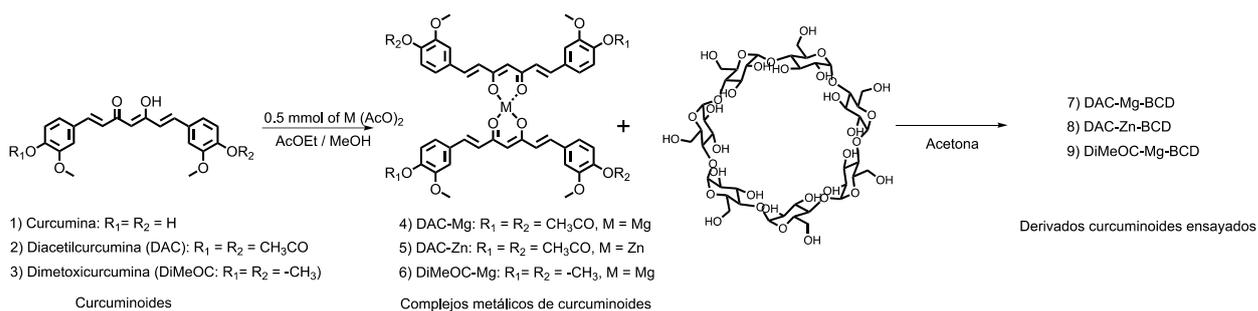


Figura 12. Curcuminoides derivados sintéticos.

La falta de inhibición en las condiciones que se usaron en este estudio es independiente del potencial funcional que estos compuestos han mostrado como antiinflamatorios, anticancerígenos y antioxidantes. Por el contrario, dan pie a la posibilidad de que, en otras condiciones, estos compuestos puedan inhibir el crecimiento de *E. coli*. (37)

La posibilidad de mejorar las condiciones experimentales se encuentra en el aumento de la concentración, ya que investigaciones anteriores (Gunes et al. 2013) han encontrado mediante análisis turbidimétrico que la curcumina inhibe exitosamente diferentes microorganismos a muy altas concentraciones entre los rangos de 129 $\mu\text{g/ml}$ (350.5 μM) a 293 $\mu\text{g/ml}$ (796 μM) y particularmente se encontró que para *E. coli* se encuentra en la concentración de 163 $\mu\text{g/ml}$ (443 μM). (42)

CONCLUSIONES

Los compuestos analizados en esta tesis experimental no mostraron inhibición de crecimiento de la cepa *E. coli*: Diacetilcurcumina-magnesio formulado con beta-ciclodextrina (DAC-Mg-BCD), Diacetilcurcumina-zinc formulado con beta-ciclodextrina (DAC-Zn-BCD), Dimetoxicurcumin-magnesio formulado con beta-ciclodextrina (DiMeOC-Mg-BCD) y curcumina a las concentraciones de 18 μM , 10 μM , 5.6 μM , 3.1 μM , por otra parte, la clorhexidina si mostró inhibición ante la cepa de *E. coli* desde las primeras 24 horas de incubación y hasta las 72 horas.

PERSPECTIVAS FUTURAS

En las últimas décadas, se ha investigado extensamente los posibles mecanismos moleculares relacionados con las propiedades antibacterianas de la curcumina. Estos mecanismos incluyen la modificación de la membrana bacteriana, la inhibición de la producción de factores de virulencia bacteriana, la formación de biopelículas bacterianas, la inducción de estrés oxidativo que conduce a la muerte celular programada, la alteración del metabolismo bacteriano y la fototoxicidad. Estas características explican cómo la curcumina puede actuar como un adyuvante antibacteriano de amplio espectro, demostrando efectos notoriamente aditivos o sinérgicos con diversos antibióticos convencionales, así como compuestos no antibióticos, como agentes antibacterianos, productos naturales y metales.

Sin embargo, a diferencia de su aplicación como fármaco de quimioterapia en la lucha contra el cáncer, su uso potencial como terapia antibacteriana enfrenta varios desafíos: los objetivos cruciales de la curcumina, ya sea sola o en combinación, en las bacterias y los mecanismos moleculares exactos aún no están completamente comprendidos. La curcumina exhibe una solubilidad limitada, baja biodisponibilidad y rápido metabolismo en humanos o animales cuando se consume por vía oral, por lo que el campo de investigación es amplio para llegar a ensayos clínicos efectivos.

Los complejos metálicos de curcuminoides presentan un gran potencial para futuras aplicaciones en diversas áreas, incluyendo la medicina y la

investigación científica. La curcumina puede formar enlaces químicos con metales como zinc, cobre, níquel y magnesio, lo que podría llevar a la creación de desinfectantes y fungicidas efectivos en diversas aplicaciones.

Además, la curcumina ha demostrado tener propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, lo que la hace prometedora para el tratamiento de enfermedades crónicas como la enfermedad de Alzheimer. Investigar la formación de complejos metálicos entre la curcumina y metales como zinc, cobre y níquel podría revelar más sobre su efecto en el cuerpo y su capacidad para prevenir o tratar estas enfermedades.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pugliese G, Favero Ms. Cepas de *Escherichia coli* resistentes a quinolonas. control de infecciones y epidemiología hospitalaria. prensa de la universidad de Cambridge; 1999;20(11):740.
2. Schulze J, Schiemann M, Sonnenborn U. Theodor Escherich. "The first person to describe *Bacterium coli commune*". In 102 years of *E. coli*: Its importance in research and medicine. Hagen: Ed. Alfred-Nissle- Gessellschaft (2006) 7-10.
3. Fernández R, Rodríguez C, Rodríguez I, Gómez F. *Escherichia coli* como causa de diarrea infantil. Rev cubana Pediatr [Internet]. 2003 Sep [citado 2023 Nov 28]; 75(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312003000300010&lng=es.
4. Rodríguez A, Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud pública Méx [revista en la Internet]. 2002 Sep [citado 2023 Nov 28]; 44(5): 464-475. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011&lng=es.
5. Boop CA, Brenner FW, Wells JG, Strockbine N. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. En: Manual of clinical microbiology. Murray PR, E Jo Baron, MA Tenover, FC Tenover, RH Tenover. 7th ed Washington, D.C. E d. ASM. Press. 1999:459-474.
6. Farfán A, Ariza S, Vargas F, Vargas V. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Rev. chil. infectol. [Internet]. 2016 Ago [citado 2024 Feb 23]; 33(4): 438-450. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000400009&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182016000400009>.
 - i. 10182016000400009.
 - ii. 10182016000400009.
7. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998; 11:142-201.

8. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. N Engl J Med 1983; 308:681-685.
9. Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C. Sporadic cases of haemolytic uremic syndrome associated with fecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. Lancet 1983; 1:619-620. 13.
10. Konowalchuk J, Speirs JI, Stavric S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infect Immun 1977; 18:775-779.
11. O'Brien AD, Holmes RK. Shiga and Shiga-like toxins. Microbiol Revs 1987; 51:206-220.
12. Schmidt H, Beutin L, Karch H. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain 933. Infect Immun 1995; 63:1055-1063.
13. Knutton S, Lloyd DR, Mc Neish AS. Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to human intestinal enterocytes and cultured human intestinal mucosa. Infect Immun 1987; 55:69-77.
14. Savarino SJ, Fasano A, Robertson DC, Levine MM. Enteroadherent *Escherichia coli* elaborate a heat-stable enterotoxin demonstrable in an *in vitro* intestinal model. J Clin Invest 1991; 87:1450-1455
15. Henderson Ir, Czeczulin J, Eslava C, Noriega F, Nataro JP. Characterization of pic, a secreted protease of *Shigella flexneri* and enteroadherent *Escherichia coli*. Infect Immun 1999; 67:5587-5596
16. Cobeljic M, Miljkovic-Selimovic B, Paunovic-Todosijevic D, Velickovic Z, Lepsanovic Z, Savic D et al. Enteroadherent *Escherichia coli* associated with an outbreak of diarrhoea in a neonatal nursery ward. Epidemiol Infect 1996; 117:11
17. Forestier C, Meyer M, Favre-Bonte S, Rich C, Malpuech G, Le L, et al. Enteroadherent *Escherichia coli* and diarrhea in children: a prospective case-control study. J Clin Microbiol. 1996; 34: 2897-903.
18. Poitrineau P, Forestier C, Meyer M, Jallat C, Rich C, Malpuech G, et al. Retrospective case-control study of diffusely adhering *Escherichia coli* and clinical features in children with diarrhea. Clin Microbiol 1995; 33: 1961-2.

19. Vázquez A, Miliar J. (2020). ENFERMEDADES. Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría, 33(133), 1713.
20. Gómez O. (2014). Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* enteropatógena en Colombia. *Revista chilena de infectología*, 31(5), 577-586.
21. Black R, Cousens S, Johnson H L, Lawn J E, Rudan I, Bassani D G, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. *Lancet* 2010; 375 (9730): 1969-87.
22. De Cos P, Pérez E. Cúrcuma I (*Curcuma longa* L.). *Reduca (Biología)*, 2014, vol. 7, no 2.
23. Rebecca A. Taylor, PharmD, MBA, BCPS y Mandy C. Leonard, PharmD, BCPS. Curcumin for Inflammatory Bowel Disease: A Review of Human Studies. ACAM Integrative Medicine Blog. 18 de abril 2014. Disponible en: <https://www.acam.org/blogpost/1092863/ACAM-Integrative-Medicine-Blog?tag=inflammatory+bowel+disease>
24. Ríos, E.; Giraldo, G.A.; León, D.F. y Moreno, A. 2008. Estudio del perfil de compuestos volátiles de los rizomas de *Curcuma longa* L. Cultivada en el departamento del Quindío, Colombia. *Rev. Invest. Univ. Quindío*, 18: 32-37. Armenia – Colombia
25. Zhao, J.; Zhang, J. S.; Yang, B.; LV, G. P. y Li, S.P. 2010. Free Radical Scavenging Activity and Characterization of Sesquiterpenoids in Four Species of *Curcuma* Using a TLC.
26. Silva de Oliveira, C.; Mesquita, G. M.; Petacci, F.; Freitas, S. S.; Moreno, M. I.; Cardoso, E. y Morais, L. 2005. Ar-turmerona, sesquiterpeno responsável pela atividade alelopática de *Curcuma longa*. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).
27. Meza W, Machado J, Alvarez Y, Obregón M, Nieto A, Toscano R, Enríquez R. (2019). A new family of homoleptic copper complexes of curcuminoids: Synthesis, characterization and biological properties. *Molecules*, 24(5), 910.
28. Francesco, D. P., Giuliana, R., Eleonora, A. D. M., Giovanni, A., Federico, F., & Stefano, T. (2013). Comparative evaluation of the pain relieving properties of a lecithinized formulation of curcumin (Meriva®), mimesulide, and acetaminophen. *Journal of pain research*, 201-205.

29. Bosman B. (1994). Testing of lipoxygenase inhibitors, cyclooxygenase inhibitors, drugs with immunomodulating properties and some reference antipsoriatic drugs in the modified mouse tail test, an animal model of psoriasis. *Skin Pharmacol*, 7(6): 324-334.
30. Rafatullah S, Tariq M, Al-Yahya MA, Mossa JS, Ageel AM. (1990). Evaluation of turmeric (*Curcuma longa*) for gastric and duodenal antiulcer activity in rats. *J Ethnopharmacol*, 29: 25-34
31. Munzenmaier A, Lange C, Glocker E, Covacci A, Moran A, Berswill S, Baeuerle PA, Kist M, Palh HL. (1997). A secreted/ shed product of *Helicobacter pylori* activates transcription factor nuclear factor-kappa B. *J Immunol*, 159(12): 6140-6147.
32. Hussain M, Chandrasekhara N. (1994). Biliary proteins from hepatic bile of rats fed curcumin or capsaicin inhibit cholesterol crystal nucleation in supersaturated model bile. *Ind J Biochem Biophys*, 31: 407412.
33. Itokawa, H., Shi, Q., Akiyama, T., Morris-Natschke, S. L., & Lee, K. H. (2008). Recent advances in the investigation of curcuminoids. *Chinese Medicine*, 3, 1-13.
34. Núñez A, Cerecero P, Sánchez L, Robles J, Bermeo J. (2020). Efecto antimicrobiano de curcumina sobre *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. *Nova scientia*, 12(25).
35. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. [www.who.int](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance). 2020l Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
36. Cuevas, J. H. M. (2024). *Farmacología aplicada en anestesiología. Escenarios clínicos*. Editorial Alfil.
37. Domínguez T. (2021). Actividad antimicrobiana y antifúngica *in vitro* de *Cúrcuma longa* L. y *Centella asiática* L. frente a microorganismos de importancia clínica.
38. Tyagi P, Singh M, Kumari H, Kumari A, & Mukhopadhyay, K (2015). Bactericidal activity of curcumin I is associated with damaging of bacterial membrane. *PloS one*, 10(3), e0121313.
39. Cúrcuma [Internet]. Utep.edu. Disponible en: <https://www.utep.edu/herbal-safety/hechos-herbarios/hojas-de-datos-a-base-de-hierbas/curcuma.html>

40. Meza-Morales W, Estévez-Carmona MM, Alvarez-Ricardo Y, Obregón-Mendoza MA, Cassani J, Ramírez-Apan MT, et al. Full structural characterization of homoleptic complexes of diacetylcurcumin with Mg, Zn, Cu, and Mn: Cisplatin-level cytotoxicity *in vitro* with minimal acute toxicity *in vivo*. *Molecules* [Internet]. 2019. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/8/1598>
41. Jorge C, Delgado J. Preparación y Caracterización de Complejos de Curcumina con Zinc (II), Níquel (II), Magnesio (II), Cobre (II) y su Evaluación Frente a Bacterias Grampositiva y Gramnegativa. *Revista Politécnica*. 2023 May 1;51(2):63–72
42. Gunes H, Gulen D, Mutlu R, Gumus A, Tas T, Topkaya A. Antibacterial effects of curcumin: An *in vitro* minimum inhibitory concentration study. *Toxicology and Industrial Health*. Vol. 32(2) 246–250. 2013.