



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

EFFECTO DE TRES DERIVADOS DE CÚRCUMA SOBRE  
EL CRECIMIENTO DE *Streptococcus mutans*.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N O   D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

ADOLFO GUSTAVO BARRAGÁN SÁNCHEZ

TUTORA: Dra. EILEEN URIBE QUEROL

ASESOR: Dr. RAÚL GUILLERMO ENRIQUEZ HABIB

ASESOR: Dr. MARCO ANTONIO OBREGÓN MENDOZA



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.

## **Dedicatoria**

**A todos aquellos que han dejado una huella imborrable en nuestras vidas y que, aunque ya no están físicamente con nosotros, continúan inspirándonos día a día. Esta tesis está dedicada con cariño y gratitud, en memoria de todos los que ya no están.**

**“Sus voces resuenan en mi corazón, alentándome a seguir”**

## **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 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**.

Agradecimientos especiales al **Dr. Marco Antonio Obregón Mendoza** por su paciencia y facilidad de enseñanza, al **Dr. Gonzalo Montoya Ayala** y a su equipo de trabajo, al **Dr. Armando Jorge Duarte Serrano**, a la **Laboratorista Liliana Velasco Celaya** y a la **Dra. Paola Eréndira Castro Castro** por su apoyo y sus consejos.

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/>.

# Índice

<b>Resumen</b>	<u>1</u>
<b>Capítulo I</b>	
1.1 Definición, incidencia, prevalencia y características de la caries dental	<u>3</u>
1.2 Papel de <i>Streptococcus mutans</i> en la formación de la caries dental	<u>5</u>
1.3 Importancia de encontrar alternativas terapéuticas para el tratamiento de la caries dental	<u>6</u>
<b>Capítulo II: <i>Streptococcus mutans</i></b>	
2.1 Descripción y características de <i>Streptococcus mutans</i>	<u>9</u>
2.2 Taxonomía	<u>9</u>
2.3 Características	<u>9</u>
2.4 Papel de <i>Streptococcus mutans</i> en la formación de la biopelícula dental	<u>10</u>
2.5 Mecanismos de adhesión y colonización de <i>Streptococcus mutans</i> en la superficie dental	<u>12</u>
<b>Capítulo III: Cúrcuma</b>	
3.1 Descripción botánica y composición química de la cúrcuma	<u>15</u>
3.2 Usos tradicionales y propiedades medicinales de la cúrcuma	<u>15</u>
3.3 Principales componentes activos de la cúrcuma y su actividad biológica	<u>17</u>
3.4 Investigaciones previas sobre el efecto antimicrobiano de la cúrcuma	<u>18</u>
<b>Capítulo IV: Derivados de la cúrcuma</b>	
4.1 Curcuminoides	<u>20</u>
4.2 Estudios <i>in vitro</i> sobre el efecto antimicrobiano de los derivados de curcumina	<u>22</u>
4.3 Mecanismos de acción propuestos para los compuestos activos de la curcumina	<u>23</u>
4.4 Efecto de los derivados de la curcumina sobre otras bacterias orales relevantes	<u>25</u>
<b>Antecedentes</b>	<u>27</u>
<b>Planteamiento del problema</b>	<u>28</u>
<b>Justificación</b>	<u>28</u>
<b>Hipótesis</b>	<u>28</u>
<b>Objetivo general</b>	<u>28</u>
<b>Objetivos específicos</b>	<u>29</u>
<b>Materiales y métodos</b>	<u>29</u>
<b>Resultados</b>	<u>34</u>

<b>Discusión</b>	<u>40</u>
<b>Conclusiones</b>	<u>44</u>
<b>Bibliografía</b>	<u>45</u>

## Resumen

La caries dental es una enfermedad multifactorial, promovida por las interacciones dinámicas entre los microorganismos cariogénicos y comensales dentro de la biopelícula dental. La caries dental depende de los productos del metabolismo de los carbohidratos que utilizan dichos microorganismos. Dentro de los microorganismos que constituyen la biopelícula dental, *Streptococcus mutans* es uno de los principales patógenos en el inicio y desarrollo de la caries dental, especialmente durante la niñez, sin embargo, no es necesaria su presencia para el inicio de la misma.

Actualmente, no existe un tratamiento eficaz para inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans*. Sin embargo, para controlar la infección causada por el microorganismo se utilizan dos métodos a saber: El primero, es la prevención mediante una apropiada higiene oral. El segundo, es la medicación (una vez establecida una infección por dicha bacteria) mediante la prescripción de antibióticos para pacientes comprometidos sistémicamente.<sup>1,2</sup> Una de las consecuencias del uso indiscriminado de antibióticos es que las bacterias adquieren resistencia a los mismos.

En la búsqueda de compuestos naturales con propiedades antibacterianas encontramos a *Curcuma longa*, conocida como cúrcuma o turmérico. La cúrcuma tiene un origen en la India y posee amplias actividades biológicas como antioxidante, antibacteriana, antiinflamatoria y anticancerígena, propiedades que se atribuyen a la curcumina, que es el principal metabolito secundario activo.

La curcumina es un compuesto de una cadena heptanoide dentro de un grupo  $\beta$ -dicetona y dos grupos fenólicos en los sustituyentes aromáticos. El grupo  $\beta$ -dicetona es responsable de quelatar diferentes iones metálicos que conducen a la formación de complejos metálicos en esta molécula. La curcumina y sus complejos metálicos llamados curcuminoides ejercen diferentes propiedades biológicas como antiinflamatorios, antioxidantes y antitumorales. Los complejos

metálicos curcuminoides suelen mostrar mejores solubilidades en medios acuosos, así como mayor biodisponibilidad y actividad biológica que la curcumina. En este trabajo evaluamos si tres nuevos complejos metálicos derivados de curcuminoides fueron capaces de modificar el crecimiento de *Streptococcus mutans*. Ninguno de los derivados inhibió la capacidad de crecimiento del microorganismo en las condiciones que se evaluaron. En conclusión, los complejos metálicos de curcuminoides no poseen actividad anticariogénica sobre *Streptococcus mutans*.

# Capítulo I

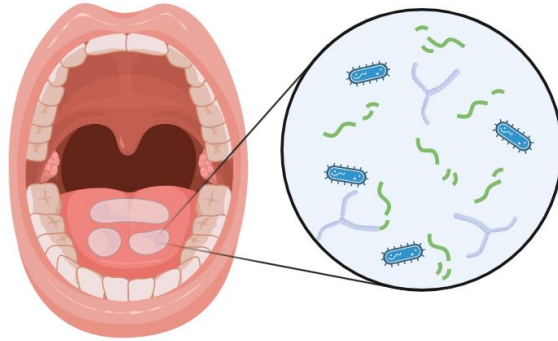
## La caries dental

### 1.1 Definición, incidencia, prevalencia y características.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la caries dental es el resultado de la formación de biopelícula dental y la acumulación de los productos del metabolismo bacteriano proveniente de los azúcares libres, contenidos en los alimentos y las bebidas.<sup>3</sup> La caries dental es una enfermedad oral muy común. Datos de la OMS estiman que, en 2022, 514 millones de niños padecieron caries en dentición decidua, y 2 billones de adultos sufrieron de caries en su dentición permanente.<sup>3</sup>

Incluso, en algunos estudios que relacionan el índice de masa corporal con la caries se encontró que el promedio de caries se eleva en individuos con sobrepeso y obesidad.<sup>4</sup> Este dato indica que posiblemente la falta de hábitos saludables provoca una deficiente salud, lo que imposibilita la higiene dental para prevenir la caries.

La cavidad oral posee un ecosistema formado por una gran cantidad de microorganismos residentes y transitorios. Las funciones de estos microorganismos varían de acuerdo al tiempo que éstos hayan estado presentes en la cavidad oral. Los microorganismos establecen comunidades bien organizadas en una estructura denominada biopelícula dental (también denominada placa dentobacteriana o biopelícula bacteriana). La biopelícula dental se establece desde la infancia temprana y se sabe que proviene principalmente de la madre o la persona con la que más contacto se tiene durante este periodo de vida.<sup>5</sup> Cada especie de microorganismos presenta diversas características que pueden promover el desarrollo de padecimientos como la halitosis, la enfermedad periodontal y la caries dental, entre otras (Figura 1).<sup>5</sup>



**Figura 1. Ilustración de presencia de microorganismos en la cavidad oral.**

Fuente: Propia

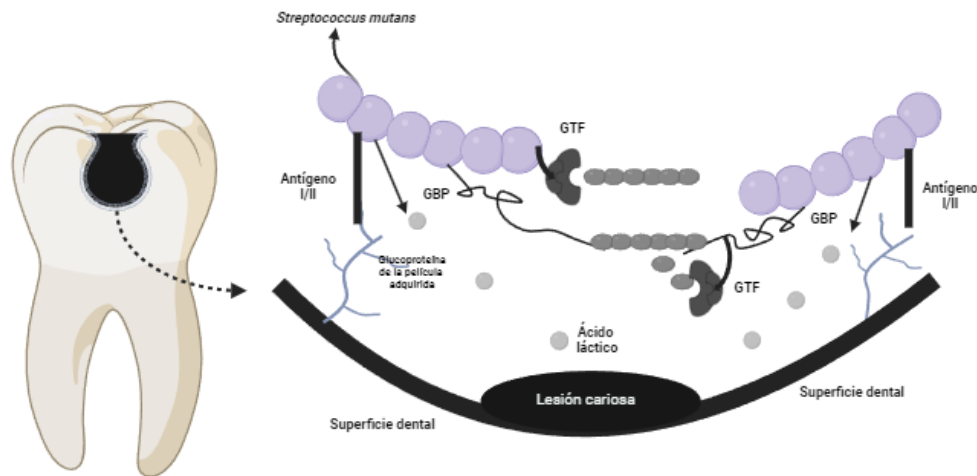
En 1890, Miller propuso la primera teoría que brindó una explicación a la caries. En ella, describe que los microorganismos presentes en cavidad oral forman una biopelícula dental estableciendo un sistema ecológico heterogéneo que constituye la microbiota oral. La homeostasis de la microbiota oral determina la salud oral. Sin embargo, cuando esta homeostasis se pierde se presentan enfermedades como la caries<sup>6</sup>. La caries dental es causada por la presencia de bacterias específicas en la cavidad oral. Entre ellas se encuentra *Streptococcus mutans*, un microorganismo Gram positivo que coloniza la superficie dental y desempeña un papel clave en la formación de la biopelícula dental. La biopelícula presente en la caries está compuesta por polímeros extracelulares<sup>7</sup> y un ecosistema complejo de bacterias Gram positivas como *Streptococcus mitis* y *Streptococcus mutans*, así como de otras especies productoras de ácido, tales como: *Veillonella*, *Scardovia*, *Lactobacillus* y *Propionibacterium*. Los productos del metabolismo de estas bacterias generan un medio cariogénico propicio para la colonización de más bacterias. Caufield y colaboradores en 1993 estudiaron la biopelícula dental de 46 infantes en donde determinaron que la “ventana de infectividad”, es decir, el primer contacto con bacterias como *Streptococcus mutans*, ocurre a los 26 meses de nacidos, en la mayoría de los niños, comenzando con la proliferación de bacterias comensales que fungen como colonizadores primarios.<sup>8</sup>

Además, otro de los factores predisponentes a la caries en infantes es el tipo de parto en que nacieron y se ha comprobado que los bebés nacidos por cesárea

están expuestos a una microbiota bacteriana menor que los que nacen por parto natural. Los nacidos en parto natural son expuestos a la microbiota vaginal en donde adquieren *S. mutans* y otras bacterias de la microbiota de la madre.<sup>9</sup>

## 1.2 Papel de *Streptococcus mutans* en la formación de la caries dental.

A pesar de que *S. mutans* se encuentra en la biopelícula dental desde una edad temprana y que múltiples cepas de esta bacteria tienen una relación con la caries, este microorganismo no es indispensable para el desarrollo de caries.<sup>8</sup> Debido a que varias bacterias que se encuentran en la biopelícula dental poseen un metabolismo basado en productos de la fermentación como ácidos orgánicos, el resultado de dichos productos es la desmineralización de la superficie dental, afectando y disolviendo la hidroxiapatita del esmalte dental. Cuando el esmalte es destruido, comienza el proceso infeccioso conocido propiamente como caries.<sup>5</sup> Aunque *S. mutans* genera ácido como producto de su metabolismo, es una bacteria ácido-resistente ya que sintetiza polímeros extracelulares que lo protegen del ácido y que le confieren su gran potencial cariogénico (Figura 2).



**Figura 2. Actividad cariogénica de *S. mutans*.**

GTF: Glucosiltransferasa, GBP: Proteína de unión a glúcidos. Fuente: Propia

### **1.3 Importancia de encontrar alternativas terapéuticas para el tratamiento de la caries dental.**

Dado que la caries es una enfermedad infecciosa común y el tratamiento odontológico no es accesible para toda la población, la caries constituye un problema de salud pública con un alto índice de prevalencia y con consecuencias negativas en la calidad de vida en individuos de distintas edades que la padecen.<sup>10</sup>

A pesar de la prevalencia de la caries en la población mundial, el tratamiento a seguir varía de acuerdo con la opinión y experiencia del odontólogo (al determinar si una caries está activa o no). El odontólogo debe enseñar al paciente la correcta técnica de cepillado y debe insistir en la importancia de su higiene oral.<sup>9</sup> Los tratamientos para la caries pueden clasificarse en tratamientos preventivos, invasivos y no invasivos (Tabla 1).<sup>11</sup>

Los tratamientos preventivos de la caries son considerados mediante una correcta técnica de cepillado, la aplicación de flúor y la aplicación de selladores de fosetas y fisuras. Una adecuada técnica de cepillado impedirá la proliferación de microorganismos que provocan la caries. El flúor es un elemento electronegativo capaz de inhibir el proceso carioso al disminuir la producción de ácido por parte de microorganismos fermentadores, influye en diversas enzimas involucradas en los procesos metabólicos de las bacterias, dificultando su capacidad para obtener energía y generar productos. Algunas de las enzimas que se ven afectadas por los fluoruros son: enolasa, fosfoglucomutasa, fosfatasa, catalasa, peroxidasa y hexocinasa. Además en bajas concentraciones, los fluoruros promueven la incorporación de iones de calcio y fosfato en la superficie dental, que son agregados durante el proceso de mineralización, reduciendo de esta manera la desmineralización y promoviendo la remineralización, pues el esmalte resultante contiene fluoruro, por lo que se le denomina fluorapatita, que posee una dureza superior y es menos soluble en ácido. Por otra parte, la aplicación de selladores de fosetas y fisuras al ser

colocado en los surcos evitan y previenen la caries, ya que los selladores están compuestos ya sea de bisfenol glicidil metacrilato (Bis-GMA) que brindan una protección al desgaste y/o de ionómero de vidrio, que posee una liberación de fluoruro promoviendo la mineralización como se ha indicado anteriormente.

Tabla 1. Tratamientos para caries

Tratamiento Invasivos	Características
Resinas, amalgamas y/o incrustaciones	<p>En estos casos, son necesarias las preparaciones de la cavidad para restaurar los órganos dentarios.</p> <p>Los pacientes ante la percepción de dolor y la ansiedad y miedo que les generar, promueve un condicionamiento aversivo ante las visitas al odontólogo<sup>12</sup> lo que vuelve aún más complicado el poder mantener una adecuada salud oral.</p>
Tratamientos no invasivos	
Remineralización	Se realiza mediante la aplicación de geles o soluciones a base de calcio, fosfatos y/o xilitol en la zona desmineralizada y que se observa como una lesión incipiente.
Uso de agentes cariostáticos	Tienen la finalidad de detener la progresión de la caries dental y disminuir la sensibilidad dentinaria, empleando compuestos como el nitrato de plata o el fluoruro estañoso. Sin embargo, los cariostáticos suelen ser productos tóxicos además de producir pigmentaciones al entrar en contacto con la mucosa oral <sup>11</sup>

La búsqueda de alternativas terapéuticas para el tratamiento de la caries dental continúa siendo un área de investigación y es crucial para mejorar la efectividad,

seguridad, accesibilidad y enfoque preventivo de los tratamientos, contribuyendo así a la salud bucal global y al bienestar de las personas.

## Capítulo II

### *Streptococcus mutans*

#### 2.1 Descripción y características de *Streptococcus mutans*.

*Streptococcus mutans* es un microorganismo que se describió por primera vez en 1924 por J. Clarke. *S. mutans* fue aislado a partir de lesiones cariosas y su nombre deriva de la forma ovalada que poseen, que era similar a formas mutantes de estreptococos. No fue sino hasta 1950 cuando, *S. mutans* fue descrito como uno de los principales microorganismos colonizadores durante la formación de la caries dental.

#### 2.2 Taxonomía

Dominio: *Bacteria*

Reino: *Bacteria*

Phylum: *Firmicutes*

Clase: *Bacilli*

Orden: *Lactobacillales*

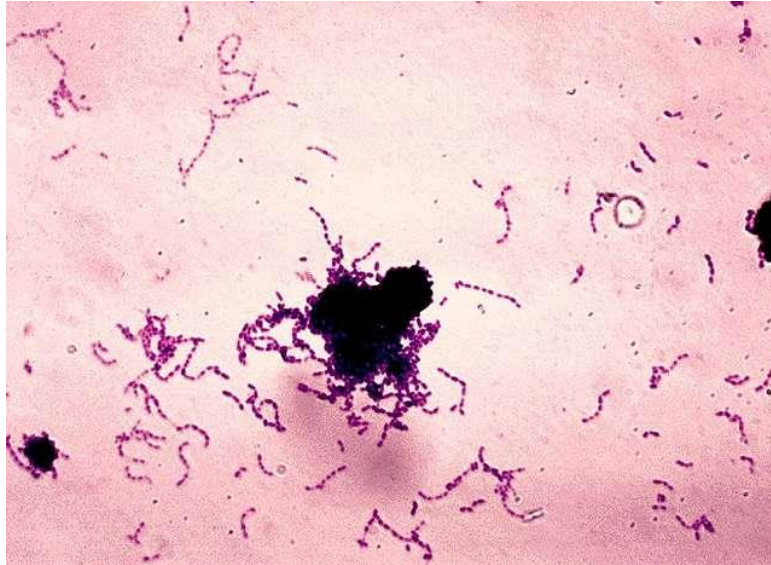
Familia: *Streptococcaceae*

Género: *Streptococcus*

Especie: *Streptococcus mutans*

#### 2.3 Características

*S. mutans* es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, no móvil y con disposición en cadena o colonias blancuzcas y de bordes bien definidos. Metabólicamente es catalasa negativa, capaz de fermentar salicina, manitol, lactosa y glucosa (Figura 3).



**Figura 3. Tinción de Gram para *S. mutans***

Fuente: Pycril, 1975. Public domain, disponible en: <https://picryl.com/media/streptococcus-mutans-01-de0972>

#### **2.4 Papel de *Streptococcus mutans* en la formación de la biopelícula dental**

*S. mutans* ha sido implicado como el principal agente causante de la caries dental en humanos y una de sus propiedades de virulencia importantes es su capacidad para formar biopelículas.<sup>13</sup> Según la hipótesis de la placa ecológica, la caries dental es la consecuencia de cambios en el equilibrio natural de la microbiota de la biopelícula dental, provocados por la alteración de las condiciones ambientales locales. Es decir, es consecuencia de la pérdida de la homeostasis en la microbiana oral.

La formación de la biopelícula dental y su sistema quorum sensing, un mecanismo comprendido como comunicación química, que implica producir, detectar, y responder a estímulos por parte de las bacterias.<sup>14</sup> Este sistema es fundamental en la vida de *S. mutans*.<sup>15</sup> La biopelícula puede desarrollarse a partir de una célula planctónica o de otra biopelícula, y su proceso de formación sigue un patrón de colonización establecido llamado sucesión autógena, en el que los microorganismos inducen cambios físicos y químicos locales que, a su vez,

modifican la biopelícula dental.

La formación de una biopelícula tiene varias fases. La colonización de las bacterias comienza con la formación de una película de proteínas salivales que se denomina película adquirida. Esta película contiene albúmina, glicoproteínas, proteínas ricas en prolina, mucinas, etc. y se deposita en todas las superficies orales incluyendo el esmalte dental. A esta película se adhieren rápidamente bacilos y cocos Gram positivos como *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* y *Actinomyces viscosus*, produciendo una colonización primaria. Tras la adhesión y proliferación de los colonizadores primarios, la especie *Fusobacterium nucleatum* actúa como puente de coagregación entre los colonizadores primarios y otras especies microbianas de colonización secundaria y tardía.<sup>13</sup>

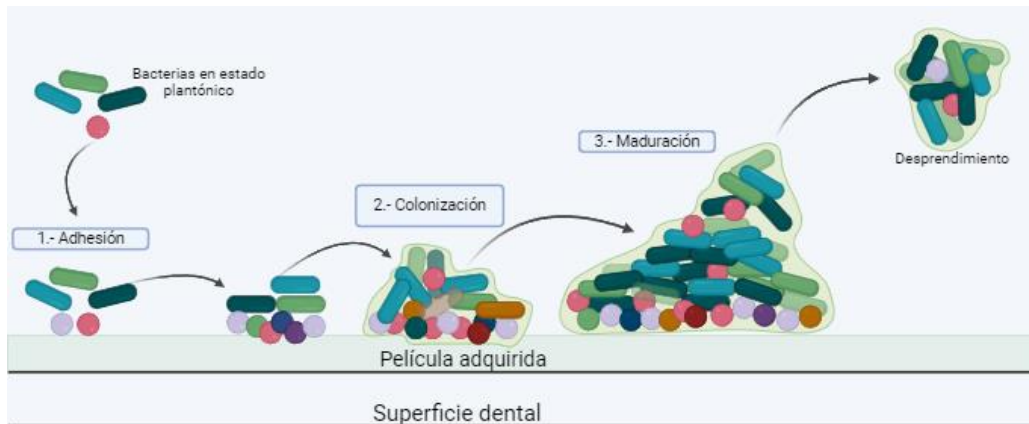
Las fases de la formación de la biopelícula dental son<sup>16</sup> (Figura 4):

- **Fase 1, adhesión:** el transporte de la bacteria hasta la superficie mediante el movimiento Browniano, por medio de la sedimentación bacteriana en el medio, a través de movimiento celular y/o mediante coagregación bacteriana. Se lleva a cabo una adhesión débil mediante fuerzas de van der Waals a una distancia menor a 50 nm. Esta adhesión es reversible.

Tras la adhesión inicial ya sea directa o mediante fimbrias, ocurre la adhesión irreversible por interacciones covalentes. Para reforzar esta adhesión, los microorganismos secretan una matriz orgánica de exopolisacáridos que brinda una mayor resistencia a las bacterias de ante componentes humorales y celulares del sistema inmunológico.

- **Fase 2, colonización:** Una vez que los microorganismos están firmemente adheridos, comienza la reproducción y posterior adhesión de las nuevas especies, lo que significa que la biopelícula se ha desarrollado por completo.

- **Fase 3, maduración:** Tras alcanzar la madurez, algunos de los microorganismos, ya sea de manera aislada o en conjunto, se desprenden de la matriz para formar nuevas colonias.



**Figura 4. Fases de la formación de la biopelícula dental.** Fuente: Propia

## 2.5 Mecanismos de adhesión y colonización de *Streptococcus mutans* en la superficie dental.

La glucosiltransferasa (GTF) y la fructosiltransferasa (FTF) son enzimas responsables de la síntesis polisacáridos como el glucano y el fructano. Estos polisacáridos facilitan la adhesión de la bacteria a la superficie dental.

La GTF sintetiza polímeros de  $\alpha$ -glucano intracelular y extracelular. La GTF utiliza la sacarosa como sustrato y tiene varias isoformas

- a) GTF-S o D: Sintetiza dextrano, un polisacárido complejo y soluble.
- b) GTF-I o B: Sintetiza glucano insoluble.
- c) GTF-SI o C: Sintetiza ambos glucanos.

La capacidad de *S. mutans* para sintetizar estos compuestos, principalmente los productos de GTF-I y GTF-SI, generan mutano que es un compuesto con mayor predominio de enlaces alfa, cuya viscosidad y aspecto fibrilar favorece la adherencia y acumulación de las bacterias en la biopelícula.

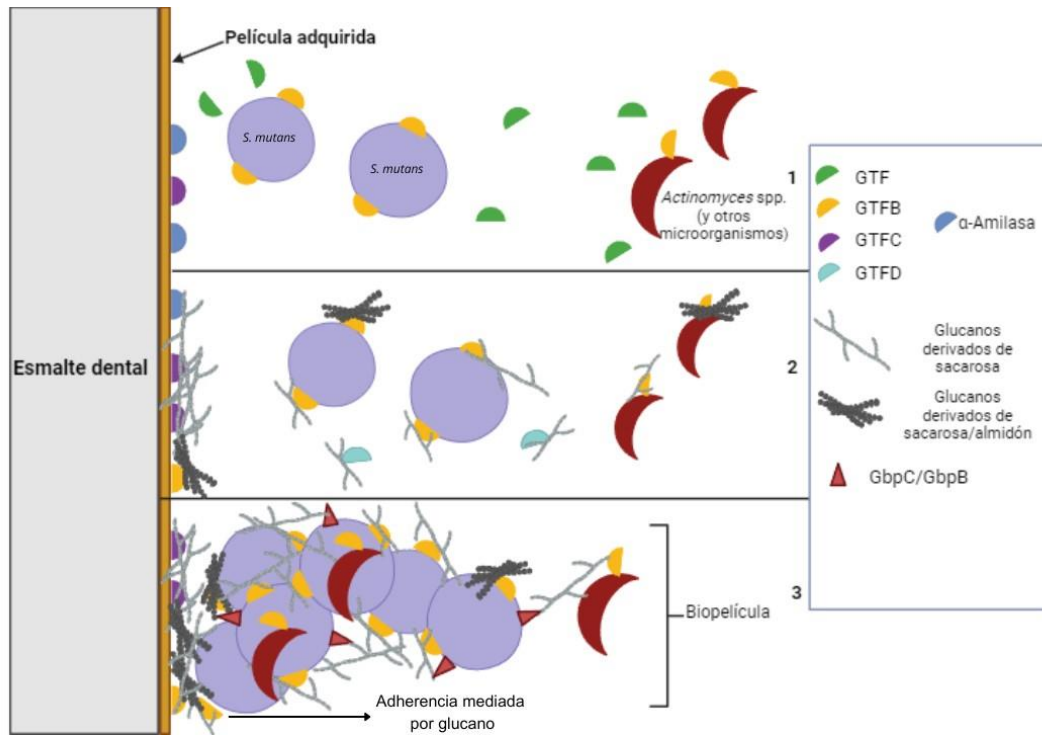
La habilidad de *S. mutans* para metabolizar una gran cantidad de carbohidratos hace que el pH de la cavidad bucal disminuya, lo que conlleva a un ambiente agreste para otras especies colonizadoras rivales y desemboca en la desmineralización del órgano dentario. La capacidad de *S. mutans* para sobrevivir en pH bajos hace que incremente la actividad de la F-ATPasa, que transporta protones fuera de la célula en asociación con la hidrólisis de ATP, manteniendo más alcalino el pH en el medio intracelular que en el extracelular (Figura 5).<sup>17</sup>

La capacidad cariogénica de *S. mutans* se debe a tres factores<sup>18</sup>:

- 1) Su capacidad de sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares de glucano, a partir de sacarosa.
- 2) Su capacidad de metabolizar carbohidratos en ácidos orgánicos (acidez).
- 3) Su capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo (aciduricidad).

Sin embargo, diversos estudios han demostrado que el proceso infeccioso de la caries puede iniciar sin que *S. mutans* se vea implicado.<sup>16,17</sup>

En conjunto, la capacidad de *S. mutans* para adherirse, producir polisacáridos extracelulares, proliferar y acidificar el entorno contribuye de manera significativa a la formación y patogénesis de la biopelícula dental. Entender estos procesos es esencial para desarrollar estrategias terapéuticas dirigidas a prevenir la adhesión y la actividad de *S. mutans*, lo que puede ayudar en la prevención de la caries.



**Figura 5. Actividad de adhesión y colonización de *S. mutans***

Abreviaturas: GbpB: Proteína C de unión a glucano; GbpC: Proteína C de unión a glucano.  
(Fuente: Modificado de Biology of *Streptococcus mutans*-Derived Glucosyltransferases: Role in Extracellular Matrix Formation of Cariogenic Biofilms con licencia CC-BY-NC)

## Capítulo III Cúrcuma

### 3.1 Descripción botánica y composición química de la cúrcuma.

*Curcuma longa* es una planta herbácea perenne de la familia *Zingiberaceae* originaria del sudeste asiático y cultivada en la India y China. La planta crece hasta un metro de alto y posee tallos subterráneos llamados rizoma, engrosados en forma de dedos que crecen horizontalmente. Del rizoma surgen las raíces y los brotes herbáceos de la planta.

Los rizomas de la cúrcuma son las partes mayormente enriquecidas con los compuestos llamados curcuminoides<sup>19</sup> y son los que se consumen en la cocina, éstos han sido utilizados por varios siglos como especia, como remedio en medicina y como el colorante amarillo natural (E-100) para alimentos. Los tallos son la parte de la planta en donde se extraen sus principios activos característicos: los curcuminoides no volátiles y los aceites aromáticos volátiles.

Los principales curcuminoides contenidos en el rizoma de la planta que le dan el color amarillo característico son una mezcla de curcumina, desmetoxicurcumina, y bis-desmetoxicurcumina. Son compuestos fitoquímicos que le confieren a esta planta importantes propiedades medicinales.<sup>19</sup>

### 3.2 Usos tradicionales y propiedades medicinales de la cúrcuma.

Desde la antigüedad, la cúrcuma comenzó a utilizarse con fines estéticos, gastronómicos e incluso médicos, formando parte de rituales y ceremonias en diversas culturas. En la cultura india, las mujeres solían frotar sus mejillas con cúrcuma para obtener un brillo dorado natural en su piel. Asimismo, se utilizaba como tinte para cabello y suplemento natural para retrasar los efectos de envejecimiento.

En India y Nepal, se utilizaron los rizomas de cúrcuma como remedio casero contra el malestar estomacal, así como para el tratamiento de la inflamación,

infecciones y diversos padecimientos de la piel.<sup>20</sup> Estudios recientes, han mostrado la actividad antimicótica, antibacteriana e insecticida de la cúrcuma, así como actividad antimutagénica. Así mismo, se han observado diversos efectos de la cúrcuma antes distintos padecimientos, por ejemplo: se ha demostrado que el extracto etanólico de cúrcuma (preparado en relación 1:5 con etanol), causa la diferenciación de adipocitos (en ratones con diabetes tipo 2 en una dosis entre 5,0 µg/ml y 10,0 µg/ml), así como una actividad hipoglucemiante en conjunto con curcuminoides y sesquiterpenoides.<sup>21</sup>

En el ámbito odontológico, se han llevado estudios para evaluar la capacidad de la cúrcuma ante diversas patologías inflamatorias. Manifar et al. (2012) llevaron a cabo un estudio con dos grupos de pacientes con estomatitis aftosa, donde a cada grupo se le indicó usar gel para tratar sus lesiones, un grupo de 28 pacientes recibió gel que contenía curcumina al 2% y el otro de 29 miembros recibieron un placebo. Durante 14 días, se les indicó aplicarse el gel dos veces al día, al final del estudio, en los pacientes que recibieron la curcumina se observó una disminución tanto del tamaño del afta como de la intensidad del dolor.<sup>22</sup>

Singh et al. en 2015 llevaron un estudio con 40 individuos sistémicamente sanos entre 20 y 35 años con gingivitis de leve a moderada, se siguió un muestreo aleatorio simple y los participantes fueron asignados a dos grupos, "A" y "B" de 20 participantes cada uno. Al grupo "A" se le recomendó gel de gluconato de clorhexidina al 2%, y al grupo "B" se le recomendó el gel experimental hecho a base de cúrcuma por el Instituto Nacional de Investigación Botánica de Lucknow. El gel de cúrcuma se preparó extrayendo el extracto de los rizomas frescos con alcohol, para después evaporar el disolvente a presión reducida a 45° C, dicho extracto se embotelló en un empaque oscuro a 4° C, para posteriormente ser mezclado en proporción 3:1 con glicerina. Comparado con el gluconato de clorhexidina, el gel de cúrcuma ha mostrado un mayor control de la biopelícula y una mejor prevención ante la gingivitis.<sup>23</sup>

Aunque múltiples estudios, como se describe más adelante, han demostrado que el consumo de cúrcuma tiene una amplia variedad de efectos beneficiosos para la salud, las preparaciones, concentraciones, formas de administración y disoluciones no son comparables. Además, se evaluaron efectos sobre su actividad antidepresiva, antitumoral y hepatoprotectora. Por lo tanto, es necesario estandarizar los métodos para evaluar los efectos de la cúrcuma, curcuminoides y/o derivados.<sup>24</sup>

### **3.3 Principales componentes activos de la cúrcuma y su actividad biológica.**

El rizoma de *Curcuma longa* contiene los principales componentes activos relacionados con los efectos beneficiosos de la cúrcuma, componentes llamados curcuminoides con estructuras diarilheptanoides y constituidos por curcumina y sus análogos, sobre todo desmetoxicurcumina y bis-desmetoxicurcumina.<sup>25</sup>

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) establece una ingesta diaria admisible (IDA) para la curcumina de 210 mg por día en un adulto que pesa 70 kg, y al no existir estudios sobre el efecto de la curcumina en menores de 18 años, no recomienda la administración de ésta en menores de edad.<sup>25</sup>

Se ha demostrado que los derivados de la cúrcuma poseen una gran variedad de propiedades biológicas benéficas y farmacológicas entre las que se encuentran: efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, anticancerígenos, neuroprotectores, cardioprotectores y antitumorales.<sup>26</sup> A pesar de ello, se ha comprobado que los niveles de curcuminoides presentes en el plasma sanguíneo son sumamente bajos incluso después de una alta ingesta de estos al día,<sup>27</sup> esto se debe en gran parte a las propiedades de los curcuminoides: baja solubilidad en agua, baja absorción y rápido metabolismo, por lo que esta baja biodisponibilidad provoca que sea sumamente complejo monitorear la absorción de derivados de la cúrcuma en sus formas originales.<sup>25</sup>

También se ha determinado que la biodisponibilidad de la curcumina aumenta si es administrada por vía oral junto con piperina, un compuesto presente en la pimienta y que es ampliamente conocido como agente inhibidor de la glucuronidación hepática e intestinal.<sup>25</sup>

Una vez metabolizados (mayormente en el hígado)<sup>25</sup> la mayor parte de la curcumina se excreta por medio de las heces y pequeñas partes son absorbidas por el intestino. Se han reportado efectos adversos relacionados con el consumo de derivados de cúrcuma, entre los más comunes están náuseas, malestar estomacal y diarrea. Sin embargo, la mayoría ya eran esperados debido al incremento de la dosis relacionada con la respuesta aumentada de la actividad.<sup>25</sup>

También se han reportado algunos efectos como obstrucción de los conductos biliares y litiasis renal en pacientes comprometidos sistémicamente.<sup>28</sup>

### **3.4 Investigaciones previas sobre el efecto antimicrobiano de la cúrcuma.**

La cúrcuma ha sido objeto de diversas investigaciones que han evaluado su efecto antimicrobiano. Estudios han demostrado que la curcumina posee propiedades antibacterianas y antifúngicas. Torres et al. (2014) evaluaron la capacidad antibacteriana del aceite esencial de los rizomas de cúrcuma frente a cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 57853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) empleando la difusión en agar por diseminación superficial en disco (Método de Kirby-Bauer) para el aceite esencial de cúrcuma y discos comerciales de ampicilina (30 µg/µL), como control negativo se usó 5 µg/µL de dimetilsulfóxido. Los resultados demostraron que el aceite esencial extraído del rizoma de la cúrcuma fue antibacteriano frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *B. subtilis*, pero principalmente ante *S. aureus* y *B. subtilis*, donde la concentración bactericida mínima fue de 32 µg/mL y 8 µg/mL respectivamente.<sup>29</sup>

Además, investigaciones han mostrado que la cúrcuma tiene igual efectividad que la clorhexidina en la inhibición del crecimiento de *Candida albicans*. Tal es el caso del estudio de Mustafa *et. al.* (2019), quienes utilizaron un enjuague bucal sin alcohol con curcuminoides purificados del rizoma de la cúrcuma empleando cosolventes (quitosano y polietilenglicol). Para el análisis se llamó a 30 pacientes con prótesis dentales removibles diagnosticados con estomatitis protésica para que utilizaran 3 tipos diferentes de enjuague: 10 usaron enjuague bucal de los derivados de cúrcuma, otros 10 utilizaron enjuague con clorhexidina y 10 más emplearon enjuague únicamente con quitosano y polietilenglicol.<sup>29</sup> Tras utilizar los enjuagues durante 2 semanas, 3 veces al día, se observó que en el 80% de los pacientes que usaron el enjuague con derivados de cúrcuma presentaron un alivio completo de las lesiones eritematosas debajo de la prótesis dental con una reducción de las colonias de *Candida albicans* en la superficie de la prótesis. Por otro lado, solo el 30% de los pacientes que usaron enjuague con clorhexidina mostraron mejorías significativas.<sup>30</sup>

Estos hallazgos respaldan el potencial de la cúrcuma como agente antimicrobiano y antiinflamatorio, lo que la convierte en un tema relevante para futuras investigaciones en el campo de la medicina y la salud. Además, se han realizado estudios sobre la capacidad antimicrobiana de la cúrcuma en la producción y formulación de alimentos.<sup>25</sup>

Los resultados de investigaciones anteriores respaldan el interés continuo en el potencial antimicrobiano de la cúrcuma y su posible aplicación en diversas áreas, desde la salud humana hasta la industria alimentaria.

## Capítulo IV

### Derivados de cúrcuma

El principal ingrediente activo de la cúrcuma es la curcumina, que posee amplias propiedades biológicas bien documentadas y se ha estudiado en diversos aspectos de la salud. Sin embargo, sus derivados también muestran propiedades y beneficios entre los que se encuentran:

- **Propiedades antiinflamatorias:** La curcumina puede reducir la inflamación y aliviar el dolor, especialmente en personas con artritis.<sup>31</sup>
- **Mejora la función hepática:** La curcumina tiene un efecto protector ante la hepatotoxicidad de ciertos fármacos.<sup>32</sup>
- **Efectos antioxidantes:** La curcumina es una fuente de antioxidantes naturales y se ha comparado con las vitaminas C y E en términos de efectos preventivos del daño por radicales libres.<sup>33</sup>
- **Efectos antibacterianos y antifúngicos:** Los curcuminoides tienen actividad antibacteriana, antifúngica y antiparasitaria.<sup>34,35,36</sup>
- **Efectos inmunomoduladores:** La curcumina puede modular el perfil de las citoquinas TI de los linfocitos T colaboradores, lo que indica un efecto inmunomodulador.<sup>37,38</sup>
- **Efectos hipolipidémicos:** La curcumina puede disminuir el colesterol, los triglicéridos y los fosfolípidos plasmáticos.<sup>26,39,40</sup>

Es importante tener en cuenta que la investigación sobre los efectos de los derivados de la cúrcuma continua en curso.

#### 4.1 Curcuminoides

Los efectos biológicos mayormente estudiados corresponden a los curcuminoides, sobre todo se ha encontrado que la curcumina posee efectos antiinflamatorios y antioxidantes.<sup>25</sup>

Históricamente, la curcumina fue aislada por primera vez en 1815 y está presente junto a la desmetoxicurcumina y la bis-desmetoxicurcumina, estos tres en conjunto son conocidos como curcuminoides. (Figura 6)

Los curcuminoides poseen una estructura hidroxicarbonada dicetónica (tipo heptanoide) con grupos funcionales que varían según el derivado curcuminoides que posee diferentes características fisicoquímicas y por consiguiente distintas propiedades farmacológicas.

Los curcuminoides se clasifican dentro de la familia de los diarilheptanoides, derivados naturales con estructuras compuestas por dos restos arilo, con grupos hidroxilos sustituidos y unidos entre sí por una cadena carbonada con 7 átomos con una función 1,3 dicarbonílica y varias insaturaciones como se representan en la Figura 6.

Las características fisicoquímicas de la curcumina corresponden a una molécula anfipática, con grupos hidrófilos e hidrófobos, lo que la convierte en una sustancia parcialmente soluble en medios acuoso, y con polaridad en la parte central.<sup>41</sup>

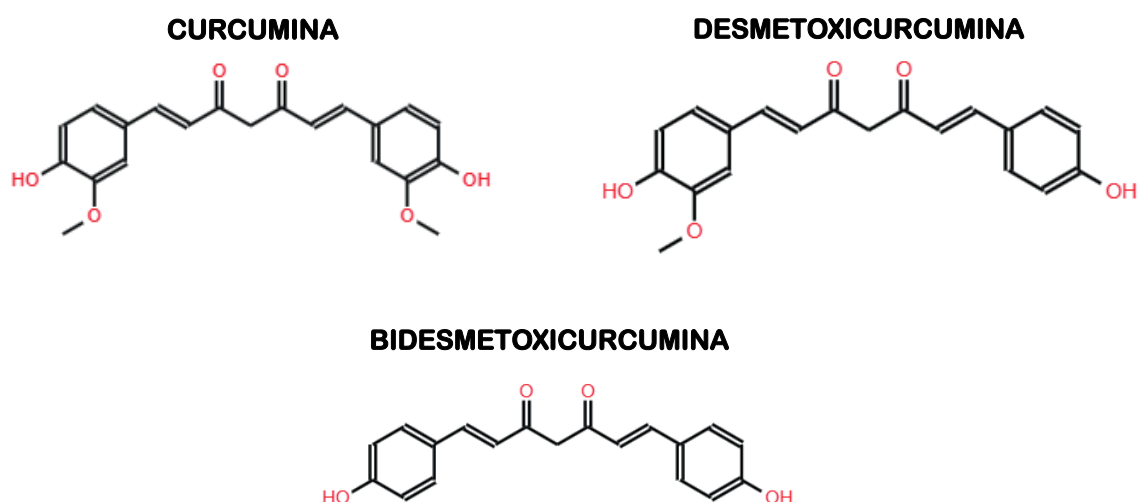


Figura 6. Estructuras químicas de curcumina y sus derivados. Fuente propia

## 4.2 Estudios *in vitro* sobre el efecto antimicrobiano de los derivados de la cúrcuma.

Los curcuminoides han mostrado actividad bactericida contra bacterias Gram positivas, como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, además se han reportado efectos de la curcumina sobre la replicación de distintos virus como Coxsackie,<sup>42,43</sup> VIH, herpes y Epstein-Barr.<sup>42,43,44,45</sup>

Pommier et al. (2005) experimentaron como la curcumina (Calbiochem) afecta la replicación del virus Coxsackie (CVB3), cultivando células HeLa con CVB3 en portaobjetos de cámara de dos pocillos, uno con curcumina y otro sin curcumina, durante 6 horas.<sup>43</sup> Los resultados mostraron que una dosis entre 10 y 40  $\mu\text{M}$  de curcumina reduce significativamente la replicación del genoma de CVB3.<sup>43</sup>

En el caso del VIH, Mazumder A et al. (1995), reportaron que la curcumina posee una concentración mínima inhibitoria de 50  $\mu\text{M}$  sobre la integrasa del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 purificado. Los resultados muestran que la inhibición de una integrasa mutante de delección que contiene los aminoácidos 50-212 parece indicar que la curcumina actúa sobre el núcleo catalítico de la integrasa.<sup>44</sup>

Liu et al. (2014) reportaron susceptibilidad de células cancerígenas de nasofaringe positivas al virus Epstein-Barr frente a una exposición entre 5 y 10  $\mu\text{M}$  de curcumina, ya que se observó una inducción de la apoptosis de las células cancerígenas nasofaríngeas, a través de las mitocondrias.<sup>46</sup>

Otras investigaciones, han demostrado que los curcuminoides usados como inductores de la apoptosis en células de carcinoma renal muestran una actividad eficaz, principalmente derivados como curcumina, bis-desmetoxicurcumina y desmetoxicurcumina. Lee et al. (2010), realizaron estudios mediante un ensayo de metiltetrazolio, donde las células cancerosas de riñón fueron expuestas a dimetoxicurcumina y curcumina y se usó citometría de flujo y el ensayo de

actividad de caspasa-3 para detectar la apoptosis, asimismo, se empleó Western blot para detectar la liberación de citocromo-c y la liberación de especies reactivas de oxígeno se midió con citometría de flujo. En orden, mostraron mayor viabilidad celular y actividad apoptótica en las células renales cancerosas: desmetoxicurcumina, curcumina y bis-desmetoxicurcumina.<sup>47</sup>

#### **4.3 Mecanismos de acción propuestos para los compuestos activos de la cúrcuma.**

La actividad variable de los curcuminoides puede estar relacionada con la estructura química de los mismos, debido a la interacción molecular entre curcumina y componentes celulares, y se debe a que los grupos carbonilos de la curcumina son susceptibles a los ataques nucleofílicos. Por otro lado, los grupos hidroxilo expuestos en las moléculas de curcumina tienen el potencial para formar enlaces de hidrógeno con los aminoácidos.<sup>48,49</sup>

Otros ensayos han demostrado que análogos como la tetra-metoxicurcumina, con 4 grupos metoxilos tienen comportamientos similares a la curcumina, aunque la tetra-metoxicurcumina ha mostrado una mayor estabilidad metabólica.<sup>50</sup>

Otras funciones, como la actividad antiinflamatoria de la cúrcuma, se deben a la actividad de los curcuminoides como mediadores del metabolismo del ácido araquidónico, inhibiendo la lipooxigenasa y la ciclooxigenasa, disminuyendo la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos, afectando el desarrollo de los procesos inflamatorios e incluso la agregación plaquetaria.<sup>26</sup>

La actividad inmunomoduladora de la cúrcuma también ha sido demostrada previamente debido al incremento de la respuesta inmune en ratas expuestas a una dieta de 1, 20 y 40 mg/kg de curcumina durante cinco semanas, para posteriormente evaluar la hipersensibilidad de tipo retardado y la actividad de los linfocitos NK. Para la estimulación del sistema inmune, se inyectó 1 mg/rata de KHL (keyhole limpet hemocyanin) disuelto en 0.2 ml de agua desionizada estéril

en la base de la cola 7 y 14 días antes de los análisis. 24 horas antes de sacrificar a las ratas se inyectó KLH agregado por calor en las almohadillas traseras, posteriormente los animales fueron sacrificados para extraer la sangre y el bazo para llevar a cabo el análisis. Mediante punción cardíaca se extrajo sangre de los cuerpos de las ratas para determinar la producción de inmunoglobulina G anti-KLH mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

Los resultados del estudio anterior mostraron que las ratas alimentadas con la dosis más alta (40 mg/kg) de curcumina mejoraron significativamente la producción de anticuerpos en respuesta a la exposición al antígeno con KLH. Los grupos que recibieron 1 o 20 mg/kg de curcumina no mostraron diferencias significativas.<sup>38</sup>

Antony et al (1999) reportaron un incremento de actividad fagocítica de macrófagos en 2 grupos de ratones a los que se les administró curcumina encapsulada liposómicamente (200  $\mu$ M/kg) y liposomas solos respectivamente, y a ambos grupos se les aplicó por vía intraperitoneal 0.2 ml de caseinato de sodio al 5%. Tras 5 días, se recolectaron los macrófagos y los resultados mostraron que al grupo al que se le administró cúrcuma presentaron un índice de 71/200 células fagocitadas contra el grupo control que mostró un índice de 42/200 células fagocitadas.<sup>51</sup>

El extracto de cúrcuma es rico en fenoles, lo que le brinda una amplia acción antioxidante sobre ácidos grasos poliinsaturados. Además, se ha reportado el efecto antioxidante de la curcumina en células renales, observando un efecto similar al que tiene la vitamina E sobre el estrés oxidativo celular y se ha comprobado que el uso de cúrcuma como suplemento alimenticio oral reduce la peroxidación lipídica y aumenta los ácidos grasos esenciales deficientes en dietas bajas en retinol.<sup>52</sup>

Al destetar ratas albinas nacidas de una pareja con una dieta sintética sin retinol, se confirmó la falta de este compuesto en el hígado. Posteriormente, se

dividió la población en 3 grupos, donde el grupo control recibió 0.374 mg de retinol en aceite por 3 semanas (vía oral). Otro grupo fue alimentado únicamente con 0.1% (p/p) de polvo de curcumina, y un último grupo fue alimentado con polvo de cúrcuma 0.1% (p/p) mezclado con alimentación normal, se sacrificaron utilizando éter para la recolección de tejidos.

Dado que las membranas lipídicas son susceptibles a la peroxidación, estas muestran un daño aún mayor cuando se encuentran bajo deficiencia de retinol, los análisis mostraron una peroxidación lipídica mayor en los ratones con deficiencia de retinol (hígado 32%, riñón 30% y cerebro 43%) mientras que en los ratones que se les administró cúrcuma y curcumina mostraron unos niveles de peroxidación de 12.5-22.6% en el hígado, 23.7-24.6% en el riñón y 16-31.4% en el cerebro, lo que significa una protección por parte de los curcuminoides respecto a alteraciones presentes en estos órganos provocados por patologías o envejecimiento.<sup>53</sup>

#### **4.4 Efecto de los derivados de la cúrcuma sobre otras bacterias orales relevantes.**

Núñez Solano et al (2020) reportaron la susceptibilidad antimicrobiana de otros microorganismos orales relevantes: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, o de algunos hongos o levaduras como *Candida albicans*. Para el ensayo se preparó una solución madre de curcumina de 100 mg/ml en dimetilsulfóxido, para las pruebas se utilizaron las concentraciones entre 3.9 µg/ml y 2 mg/ml. En el experimento se usaron pruebas de micro dilución en caldo de cultivo. Las cepas se cultivaron en placas de agar de soya, mientras que *C. albicans* se cultivó en agar dextrosa Sabouraud.

Los inóculos fueron preparados en una dilución 1/50 con 100 µl de cada tubo, para ser transferido a otro tubo con 4.9 ml de caldo Mueller-Hinton para el ensayo con bacterias. Con los inóculos preparados y las soluciones de prueba se usaron microplacas de 96 pozos con 100 µl de la solución de curcumina, siguiendo un incremento progresivo de mayor a menor. Una vez concluido, se envolvió con

plástico autoadherente y se incubó a 35° C por 24h. La curcumina mostro una concentración mínima inhibitoria de 31.2 µg/ml a 125 µg/ml para *E. faecalis*, *E. coli* y *S. aureus*, mientras que para *C. albicans* la concentración fue de 125 µg/ml.<sup>54</sup>

Además, los curcuminoides también han mostrado actividad contra bacterias Gram negativas, como *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.<sup>55</sup>

## Antecedentes

El uso de la cúrcuma como agente terapéutico se remonta al oriente<sup>54</sup> (Himalaya, islas de Pascua, India), donde la planta *Curcuma longa* se ha empleado directamente sobre heridas abiertas para favorecer su cicatrización, además se empleaba con el fin de mejorar el funcionamiento del tracto gastrointestinal, y se ha demostrado que el extracto de cúrcuma posee potencial antioxidante y antiinflamatorio.<sup>57</sup>

Se ha demostrado que la cúrcuma puede emplearse sin consecuencias negativas en el cuerpo humano, se han llevado a cabo estudios sobre los efectos de los derivados y extractos de la cúrcuma ante distintos padecimientos, pero en este caso particular faltan estudios complementarios que demuestren una actividad inhibitoria potencial sobre *S. mutans* (cuyos metabolitos ácidos culminan en la destrucción progresiva del esmalte, la dentina y el cemento).<sup>17</sup>

Previamente se ha comprobado la eficacia de la cúrcuma ante la actividad bacteriana de *S. mutans*. Lee K. et al 2011 reportaron que el aceite esencial de cúrcuma (0.25 a 4 mg/mL) muestra una inhibición significativa del crecimiento de *S. mutans* en concentraciones superiores a 0.5 mg/mL.<sup>58</sup> Por otro lado, Chirinos Z., 2020 reportó una susceptibilidad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de cúrcuma ante la cepa ATCC 25175 de *S. mutans*, específicamente cuando la concentración probada se encontraba de 5%, 25% y 50 % se observó un halo de inhibición de 6 mm, pero cuando llegó al 75% se observó un halo de inhibición de 28.50 mm.<sup>59</sup>

## **Planteamiento del problema:**

Actualmente no existe un tratamiento efectivo para inhibir el crecimiento de *S. mutans*. En la búsqueda de compuestos naturales con propiedades antimicrobianas encontramos a la cúrcuma o turmérico que posee muchas propiedades incluidas las antibióticas. En el grupo de investigación del Dr. Raúl Enríquez Habib se han desarrollado distintos derivados de curcumina que tienen actividad citotóxica, antioxidante y antiinflamatoria. A partir de estos hallazgos en esta tesis experimental nos planteamos el objetivo de examinar el efecto inhibitorio de los derivados de curcumina sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* y proponer un uso potencial como agente terapéutico contra la caries dental.

## **Justificación**

Dado que el tratamiento convencional de la caries dental no es efectivo ya que aproximadamente el 90% de la población mexicana padece algún grado de ésta.<sup>60</sup> Se ha despertado un interés creciente en la búsqueda de nuevas alternativas que incluyan compuestos derivados de plantas medicinales. La cúrcuma (*Curcuma longa*) es una especia ampliamente utilizada en la medicina tradicional y se ha demostrado que posee propiedades antimicrobianas. En esta tesis, se investigó el efecto de los derivados curcuminoides sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*.

## **Hipótesis:**

Los derivados de la cúrcuma inhiben el crecimiento de *S. mutans*.

## **Objetivo general:**

Medir la inhibición del crecimiento de *S. mutans* ante la exposición a derivados de la cúrcuma.

### **Objetivos específicos:**

Medir la inhibición del crecimiento de *S. mutans* causada por Diacetilcurcumina-magnesio formulado con beta-ciclodextrina (DAC-Mg-BCD) a las concentraciones de 3.1  $\mu\text{M}$ , 5.6  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  y 18  $\mu\text{M}$ .

Medir la inhibición del crecimiento *S. mutans* causada por Diacetilcurcumina-zinc formulado con beta-ciclodextrina (DAC-Zn-BCD) a las concentraciones de 3.1  $\mu\text{M}$ , 5.6  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  y 18  $\mu\text{M}$ .

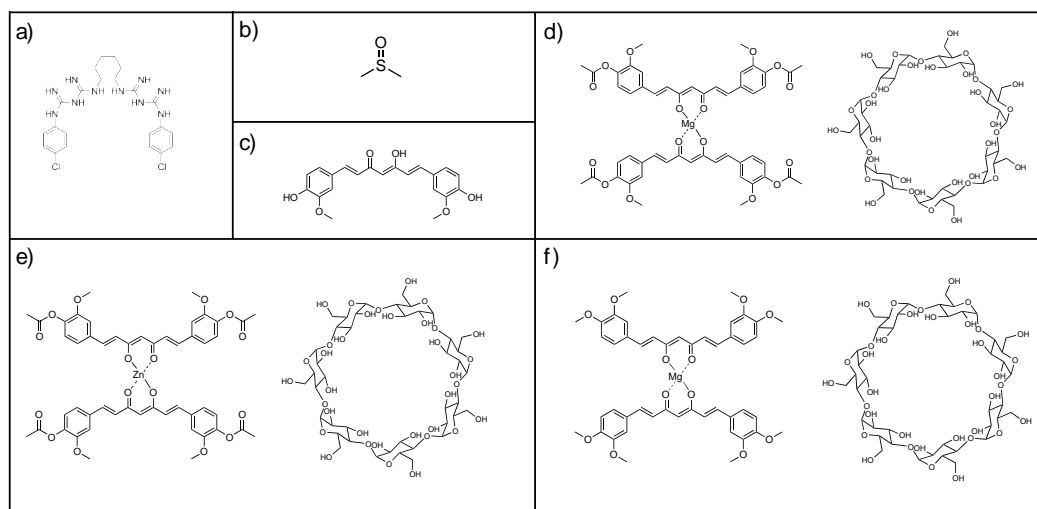
Medir la inhibición del crecimiento de *S. mutans* causada por Dimetoxicurcumina-magnesio formulado con beta-ciclodextrina (DiMeOC-Mg-BCD) a las concentraciones de 3.1  $\mu\text{M}$ , 5.6  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  y 18  $\mu\text{M}$ .

Medir la inhibición del crecimiento de *S. mutans* causada por curcumina a las concentraciones de 3.1  $\mu\text{M}$ , 5.6  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  y 18  $\mu\text{M}$ .

## **Materiales y Métodos**

### **1. Compuestos**

- Clorhexidina. Se usó al 2%. (Figura 7a).
- Dimetil sulfóxido (DMSO; Figura 7b).
- Curcumina. Peso molecular: 368 g/ mol. Se usó a las concentraciones de 3.1, 5.6, 10 y 18  $\mu\text{M}$ , disueltos en DMSO. Figura 7c.
- Curcuminoide 1: Diacetil curcumina magnesio con beta-ciclodextrina (DAC-Mg-BC) Peso molecular: 2062.19 g/ mol Se usó a las concentraciones de 3.1, 5.6, 10 y 18  $\mu\text{M}$ , disueltos en DMSO. Figura 7d.
- Curcuminoide 2: Diacetil curcumina zinc con beta-ciclodextrina, Abreviatura: DAC-Zn-BC. Peso molecular: 2103.26. Se usó a las concentraciones de 3.1, 5.6, 10 y 18  $\mu\text{M}$ , disueltos en DMSO. Figura 7e.
- Curcuminoide 3: Dimetoxicurcumina magnesio con beta-ciclodextrina Abreviatura: DiMeOC-Mg-BC. Peso molecular: 1950.5. Se usó a las concentraciones de 3.1, 5.6, 10 y 18  $\mu\text{M}$ , disueltos en DMSO. Figura 7f.



**Figura 7. Estructuras químicas de compuestos. a) Clorhexidina, b) Dimetilsulfóxido, c) Curcumina, d) Diacetylcurcumina- magnesio formulado con beta-ciclodextrina, e) Diacetylcurcumina-zinc formulado con beta-ciclodextrina y f) Dimetoxicurcumina-magnesio formulado con beta-ciclodextrina**

## 2. Cultivo de *Streptococcus mutans*

Se utilizó la cepa ATCC 25175 con una densidad óptica de  $1 \times 10^8$  bacterias/mL.

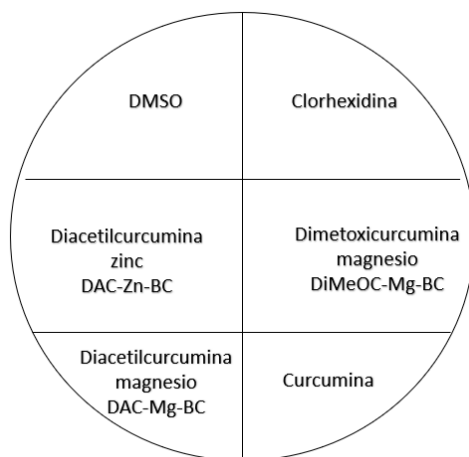
## 3. Inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans*

Para realizar la siembra de *Streptococcus mutans* se preparó un área estéril. Limpiando el área con etanol al 70% y luego encendiendo un par de mecheros de gas. Posteriormente, se prepararon las cajas Petri etiquetando con un marcador de cera y dividiendo en seis partes con los números 1 al 6 como se indica en la Figura 5. Para la siembra se prepararon 100  $\mu$ L del inóculo de *S. mutans* a una concentración de  $10^8$  bacterias/mL y luego se agregaron en la caja de Petri con agar sangre. La siembra se realizó por el método de estría masiva utilizando un asa bacteriológica que se esterilizó con ayuda del mechero y después se enfrió en el agar de la caja Petri.

#### 4. Aplicación de los discos con los curcuminoides

Se procedió a abrir un vial Eppendorf de 1.5 mL identificado con el número correspondiente a cada compuesto (DAC-Mg BC, DAC-Zn-BC, DiMeOC-Mg-BC). Utilizando una pinza estéril, se tomó un disco de papel filtro y se sumergió con cuidado en el compuesto a evaluar, evitando cualquier goteo o derrame de la solución. Luego, con las pinzas de curación, se colocó el disco en la posición designada en la placa de agar.

La disposición de los derivados de la cúrcuma siguió el esquema detallado en la figura XX. Para sumergir los discos de papel filtro que se ubicarían en la caja de Petri, además se empleó clorhexidina al 2% (control positivo) de la marca Viarden®. En los restantes compartimentos, se preparó una mezcla consistente en 10 µL de DMSO y 10 µL del derivado de cúrcuma.



**Figura 12. Distribución de los compuestos en las cajas de Petri**

Se repitieron los pasos anteriores con el resto de los discos. Se tomó la precaución de cerrar la caja Petri cada vez que se colocaba un disco. Se utilizó un disco con DMSO como control negativo. La caja Petri fue rotulada con los datos del compuesto, la fecha y la hora. Al final, el cultivo fue colocado en una jarra de anaerobiosis dentro del incubador a 37 °C.

## **5. Revisión de la inhibición del crecimiento de *S. mutans***

Se desinfectó la mesa y el material de trabajo. Se observaron y se tomaron fotografías de cada una de las cajas a las 24, 48 y 72 horas después de la siembra de *S. mutans*.

## **6. Medición del halo de inhibición usando el programa Image J**

Para medir la inhibición del crecimiento se utilizó el programa Image J (NIH 1.54f). Una fotografía de la caja de Petri en un fondo luminoso con una regla milimétrica se usó como referenciase para ajustar la escala en el programa (Figura 13a).

Para configurar la escala, utilizo la herramienta “Analyze” en la opción Set Scale. (Figura 13b), en el campo “Known distance” se colocó la referencia, previamente trazando una línea en la imagen apoyándonos en la regla para conocer su longitud. En este caso, 10 milímetros o 1 centímetro (Figura 14a). Una vez calibrada la escala, se hicieron las mediciones de los halos de inhibición presentes en cada una de las cajas de Petri.

La medición se tomó desde el disco con el compuesto hasta la colonia más cercana.

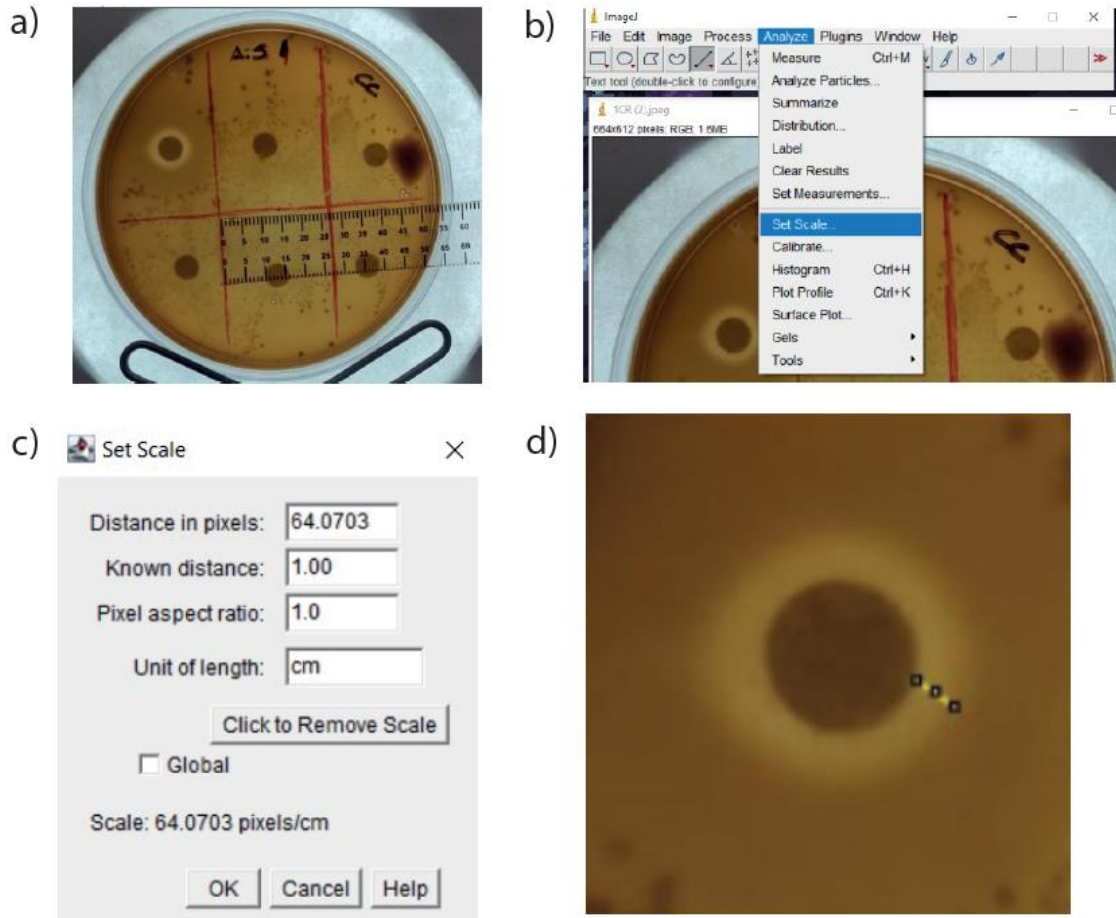


Figura 13. a) Fotografía de caja de Petri y regla milimétrica. b) Para seleccionar escala ir a Analyze, Set scale. c) Ajustes de medición. d) Medición con Image J con la escala utilizada.

## Resultados

Con el propósito de conocer la inhibición en el crecimiento de *S. mutans* de compuestos derivados de curcumina se colocaron diferentes compuestos en cada caja de Petri tal como se mencionó en la sección de materiales y métodos (Figura 12) y se midió la inhibición a las 24, 48 y 72 horas.

**Ningún derivado de cúrcuma presenta una inhibición del crecimiento de *S. mutans* durante las primeras 24 horas.**

A las 24 horas se midieron todas las concentraciones de curcumina y de sus derivados. Esto es 18, 10, 5.6 y 3.1  $\mu\text{M}$ , la distribución de los compuestos de caja uno de los compuestos fue 1) DMSO, 2) Clorhexidina, 3) DAC-Zn Bc 4) DiMeOCMg-BC, 5) DAC-Mg BC y 6) Curcumina.

El DMSO no promovió inhibición del crecimiento (Figura 14 a, b, c y d). El único compuesto que promovió una inhibición del crecimiento fue la clorhexidina (2%). El halo de inhibición fue de 4.1 mm (Figura 14 a), 5.2 mm (Figura 14 b), 5.0 mm (Figura 14 c), 6.0 mm (Figura 14 d). Siendo en promedio 5.075 mm la inhibición a las 24 horas. En el caso de DAC-Zn Bc, DiMeOCMg-BC, DAC-Mg BC y curcumina no se presentó inhibición del crecimiento de *S. mutans* (Figura 14 a, b, c y d).

24 h

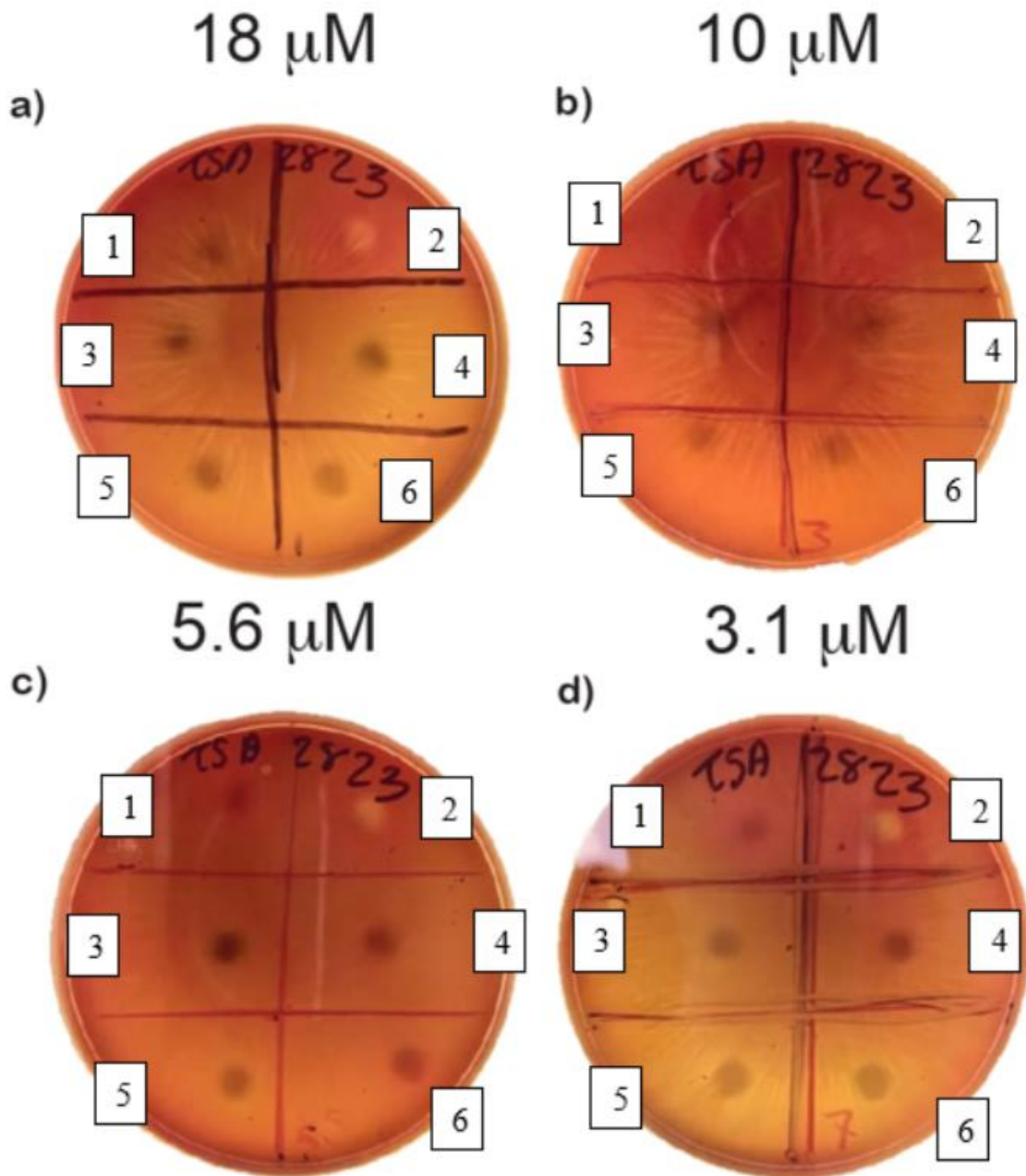


Figura 14. Fotografías de las cajas 1,3, 5 y 7 en las concentraciones de a)18  $\mu\text{M}$ , b) 10  $\mu\text{M}$ , c) 5.6  $\mu\text{M}$ , y d)3.1  $\mu\text{M}$  tras las primeras 24 h. 1) DMSO, 2) Clorhexidina, 3) DAC-Zn Bc 4) DiMeOCMg-BC, 5) DAC-Mg BC y 6) Curcumina. Las fotografías son representativas de dos experimentos.

**Ningún derivado de cúrcuma presenta una inhibición del crecimiento de *S. mutans* transcurridas 48 horas.**

Tras 48 horas se midieron todas las concentraciones de curcumina y de sus derivados. Esto es 18, 10, 5.6 y 3.1  $\mu\text{M}$ , la distribución de los compuestos de caja uno de los compuestos fue 1) DMSO, 2) Clorhexidina, 3) DAC-Zn Bc 4) DiMeOCMg-BC, 5) DAC-Mg BC y 6) Curcumina.

El DMSO no promovió inhibición del crecimiento (Figura 15 a, b, c y d). El único compuesto que promovió una inhibición del crecimiento fue la clorhexidina (2%). El halo de inhibición fue de 4.1 mm (Figura 15 a), 5.2 mm (Figura 15 b), 5.0 mm (Figura 15 c), 6.0 mm (Figura 15 d). Se mantuvo el promedio de 5.075 mm de inhibición a las 48 horas. En el caso de DAC-Zn Bc, DiMeOCMg-BC, DAC-Mg BC y curcumina no se presentó inhibición del crecimiento de *S. mutans* (Figura 15 a, b, c y d).

48 h

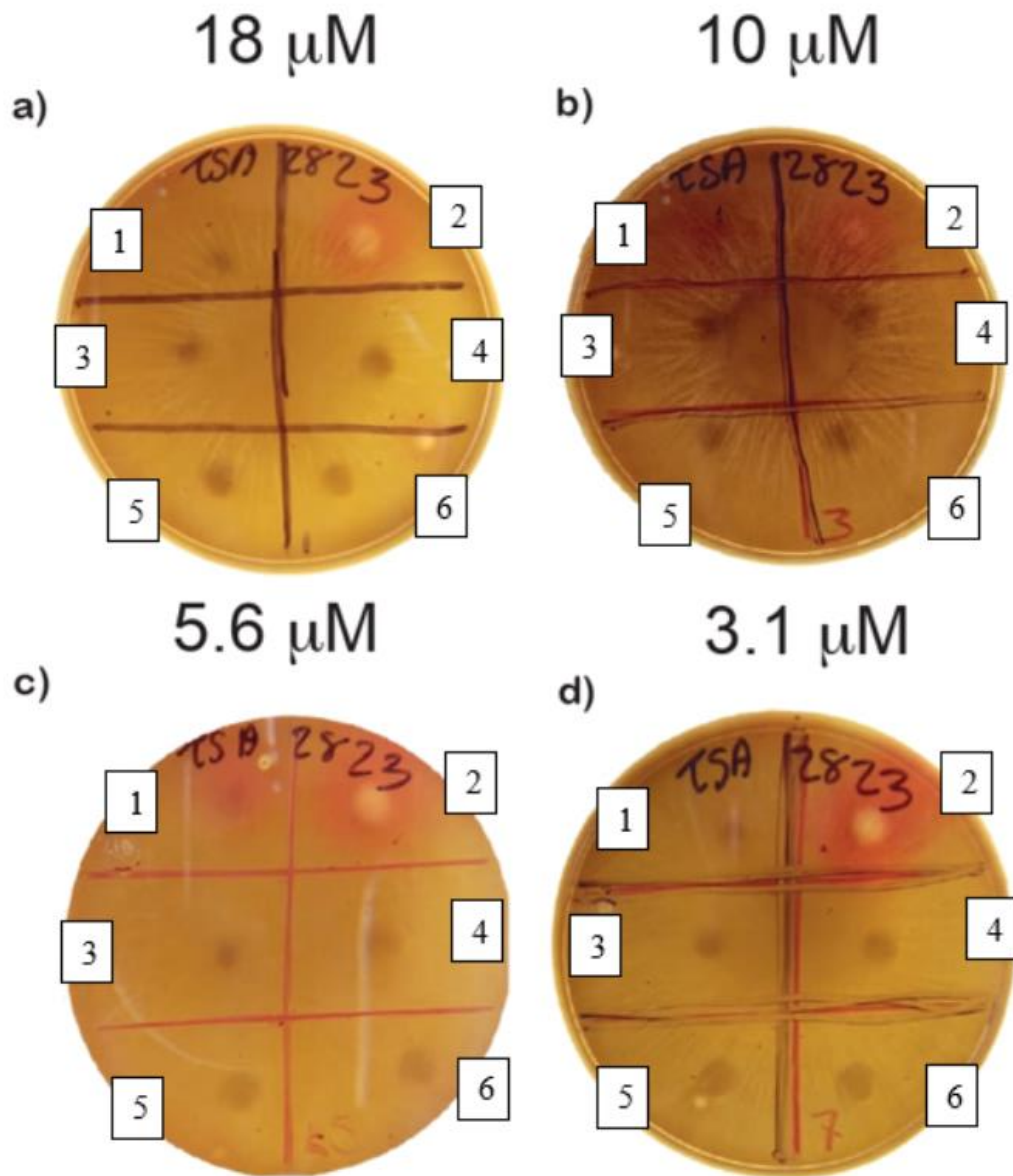


Figura 15. Fotografías de las cajas 1,3, 5 y 7 en las concentraciones de a)18  $\mu\text{M}$ , b) 10  $\mu\text{M}$ , c) 5.6  $\mu\text{M}$ , y d)3.1  $\mu\text{M}$  después de 48h. 1) DMSO, 2) Clorhexidina, 3) DAC-Zn Bc 4) DiMeOCMg-BC, 5) DAC-Mg BC y 6) Curcumina. Las fotografías son representativas de dos experimentos.

**Ningún derivado de cúrcuma presenta una inhibición del crecimiento de *S. mutans* tras 72 horas.**

Después de 72 horas se midieron todas las concentraciones de curcumina y de sus derivados. Esto es 18, 10, 5.6 y 3.1  $\mu\text{M}$ , la distribución de los compuestos de caja uno de los compuestos fue 1) DMSO, 2) Clorhexidina, 3) DAC-Zn Bc 4) DiMeOCMg-BC, 5) DAC-Mg BC y 6) Curcumina.

El DMSO no promovió inhibición del crecimiento (Figura 16 a, b, c y d). El único compuesto que promovió una inhibición del crecimiento fue la clorhexidina (2%). El halo de inhibición fue de 4.1 mm (Figura 16 a), 5.2 mm (Figura 16 b), 5.0 mm (Figura 16 c), 6.0 mm (Figura 16 d). Se mantuvo el promedio de 5.075 mm de inhibición a las 48 horas. En el caso de DAC-Zn Bc, DiMeOCMg-BC, DAC-Mg BC y curcumina no se presentó inhibición del crecimiento de *S. mutans* (Figura 16 a, b, c y d).

72 h

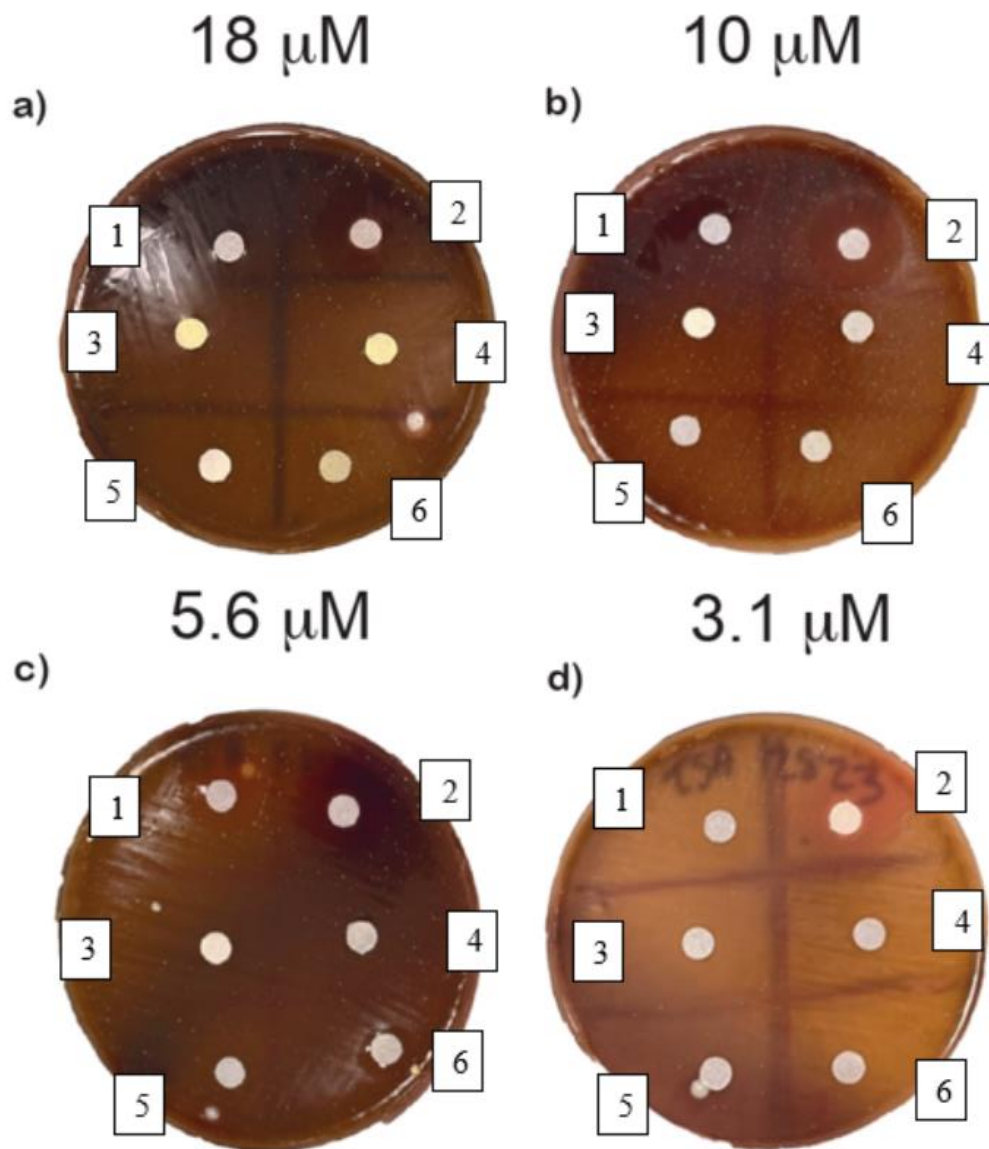


Figura 16. Fotografías de las cajas 1,3, 5 y 7 en las concentraciones de a)18  $\mu\text{M}$ , b) 10  $\mu\text{M}$ , c) 5.6  $\mu\text{M}$ , y d)3.1  $\mu\text{M}$  transcurridas 72 h. 1) DMSO, 2) Clorhexidina, 3) DAC-Zn Bc 4) DiMeOCMg-BC, 5) DAC-Mg BC y 6) Curcumina. Las fotografías son representativas de dos experimentos. Las fotografías fueron tomadas de forma distinta y parece que hay contaminación con hongos.

## Discusión

Con base en la revisión del marco teórico, se planteó la hipótesis de que los derivados de la cúrcuma presentarían un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*, lo que podría abrir nuevas perspectivas para el desarrollo de tratamientos alternativos contra la caries dental. El objetivo fue investigar el potencial de los compuestos DAC-Mg-BC, DAC-Zn-BC y DiMeOC-Mg-BC para inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans*, una bacteria asociada con la caries dental. Los resultados experimentales mostraron que estos compuestos no inhiben el crecimiento de este microorganismo, al menos en las condiciones y concentraciones usadas.

Las evidencias experimentales anteriores (Meza-Morales, *et. al.* (2019), Obregón-Mendoza *et. al.* (2024)) nos sugirieron que las concentraciones molares de los compuestos utilizadas para este estudio se encuentran en el rango de 18  $\mu$ M-3  $\mu$ M (ver Tabla 2 y 3) y se basaron en las pruebas de citotoxicidad realizadas con los complejos metálicos. Para el caso del complejo metálico de dimetoxicurcumina y magnesio formulado con beta-ciclodextrina (DiMeOC-Mg-BCD) se encontró un resultado sobresaliente para la línea celular de cáncer MDA-MB-231, derivada de un derrame pleural maligno de una paciente con cáncer de mama en estadio III.

En la tabla 2 se pueden observar que las concentraciones citotóxicas medias (CC50) del compuesto DiMeOC-Mg-BCD es mejor con respecto a los no formulados con beta-ciclodextrina y dicha actividad se debe a la mejora de la solubilidad del compuesto, además al estar formulado con dicho acarreador (beta-ciclodextrina) sus propiedades tienden a la hidrofília.<sup>61</sup>

<b>Tabla 2. CC50 (<math>\mu\text{M}</math>) de las líneas celulares ante DiMeOC y sus complejos</b>	
<b>Compuesto</b>	<b>MDA-MB-231</b>
DiMeOC	>100
DiMeOC-Mg	22.04 $\pm$ 0.06
DiMeOC-Mg-BCD	10.73 $\pm$ 0.1

Obregón M. A., *et. al.* (2024). The Antitumoral Effect *In Ovo* of a New Inclusion Complex from Dimethoxycurcumin with Magnesium and Beta-Cyclodextrin. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(8), 4380.

Para el caso de la diacetilcurcumina (DAC), Meza *et. al.* (2019) llevaron a cabo pruebas para determinar la viabilidad del uso de metales en los compuestos derivados de curcumina, pues dichos metales como el cobre son un micronutriente esencial relacionado con la respiración mitocondrial, el magnesio es un cofactor en varias reacciones enzimáticas relacionadas con el metabolismo y síntesis de ácidos nucleicos y el zinc está involucrado en la regulación apoptótica de varias células de mamíferos. En dichas pruebas, se evaluó el efecto de cuatro complejos metálicos (Mg, Zn, Cu y Mn) ante líneas celulares de adenocarcinoma de colon (HCT-15), adenocarcinoma de mama (MCF-7) y adenocarcinoma de pulmón (SKLU-1). Y se encontró que los compuesto presentaron actividades citotóxicas comparables al cisplatino (agente alquilante de ADN). En la tabla 3, se detallan las concentraciones inhibitorias medias de los derivados de DAC frente a las líneas celulares HCT-15, MCF7 y SKU-1.<sup>62</sup>

Tabla 3. IC50 ( $\mu\text{M}$ ) de las líneas celulares ante DAC y cisplatino			
Compuesto	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
DAC	22.32 $\pm$ 3.0	21.79 $\pm$ 5.0	14.07 $\pm$ 3.3
(DAC) <sub>2</sub> Mg	11.59 $\pm$ 1.97	5.72 $\pm$ 0.31	8.87 $\pm$ 1.56
(DAC) <sub>2</sub> Zn	7.21 $\pm$ 0.61	4.92 $\pm$ 0.071	4.74 $\pm$ 0.31
(DAC) <sub>2</sub> Mn	15.54 $\pm$ 1.94	13.46 $\pm$ 1.63	9.23 $\pm$ 1.22
Cisplatino	10.0 $\pm$ 0.9	9.4 $\pm$ 1.0	4.3 $\pm$ 0.5

Meza-Morales W. *et. at.* (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.

Otro grupo de investigación, al evaluar la actividad antimicrobiana de complejos metálicos de curcumina con zinc, níquel, magnesio y cobre frente a bacterias grampositivas y gram negativas se demostró que los complejos metálicos de curcumina con zinc y níquel tuvieron una actividad antimicrobiana significativa contra algunas bacterias grampositivas, mientras que los complejos metálicos de curcumina con magnesio y cobre no mostraron actividad antimicrobiana.<sup>63</sup> Nuestros resultados coinciden apropiadamente con dicha investigación ya que no se obtuvieron datos de inhibición para el caso de los complejos de magnesio (DAC-Mg-BC, DiMeOC-Mg-BC) frente a *S. mutans*.

En otros estudios, Santana y colaboradores utilizaron azul de metileno formulado con beta-ciclodextrina mediante terapia fotodinámica y una luz roja láser de 660 nm, lo cual fue efectivo para la inhibición de microorganismos de la biopelícula oral.<sup>64</sup> Adicionalmente, Jingru Wu y colaboradores en 2023, encontraron que la inhibición de la película bacteriana presente en la carne de cerdo fue exitosa después de la exposición con formulación de curcumina y beta-ciclodextrina (Cur-b-CD) y una luz LED láser (425 nm) por 40 minutos.<sup>65</sup> Al

parecer utilizando terapia fotodinámica con luz láser se obtienen mejores resultados para la inhibición del crecimiento de microorganismos.

Es importante considerar que la falta de inhibición en las condiciones experimentales que se usaron en este estudio no se relaciona directamente con el potencial funcional de estos compuestos como antioxidantes y antiinflamatorios. Tampoco se descarta la posibilidad de que en otras condiciones se puedan tener efectos citotóxicos (como se demostró en estudios anteriores) e inhibitorios del crecimiento de microorganismos, es importante a tener en cuenta que existen alternativas que en conjunto de la curcumina y los curcuminoides pueden presentar resultados favorables.

Planteamos así, algunas de las posibilidades que explican la falta de inhibición del crecimiento de *S. mutans* observada:

1) Las concentraciones utilizadas (3.1  $\mu\text{M}$ , 5.6  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  y 18  $\mu\text{M}$ ) como se ha justificado en la discusión no fueron lo suficientemente altas para mostrar una actividad biológica inhibitoria de este microorganismo.

2) La estructura química de los compuestos no es la más efectiva contra esta cepa bacteriana en particular, pues la inhibición de los grupos polares (fenoles) para las adecuadas formulaciones con beta-ciclodextrinas afectan la actividad biológica.

Como perspectivas se propone aumentar la concentración de los compuestos para probar su potencial inhibidor del crecimiento de *S. mutans*, variar la concentración de bacterias sembradas, mejorar la eficacia de estos compuestos mediante la combinación con otros agentes antimicrobianos o mediante el uso de terapia fotodinámica (como se ha realizado en investigaciones anteriores), sin embargo, ésta no resulta lo más viable debido a su costo elevado.

Estos resultados son importantes para el campo de investigación en odontología, ya que resaltan la necesidad de seguir buscando nuevas estrategias y alternativas para el control de *S. mutans* y la caries dental.

## Conclusiones

En resumen, los complejos DAC-Mg-BC, DAC-Zn-BC, DiMeOC-Mg-BC no inhiben el crecimiento de *Streptococcus mutans* en las concentraciones y condiciones experimentales utilizadas en este estudio. Estos resultados subrayan la complejidad de la interacción entre compuestos antimicrobianos y bacterias específicas, destacando la necesidad de investigaciones adicionales para comprender completamente el potencial de estos compuestos en la prevención de la caries dental.

## Bibliografía

1. Jain, P., & Pundir, R. K. (2009). Antibiotic sensitivity pattern of *Streptococcus mutans* against commercially available drugs. J Pharm Res, 2(7), 1250-1252.
2. Sánchez, S. B., Varona, F. S. S., Ortega, H. D., & Ciódaró, A. R. (2015). Amoxicillin resistance of *Streptococcus mutans* isolated from individuals with and without antibiotic therapy. Universitas Odontológica, 34(72), 101-106.
3. OMS, Oral health (Internet). Publicado el 14 de marzo de 2023, consultado el 18 de junio de 2023). Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
4. Anaya A., M. D. P., Caudillo J., T., Juárez L., M. L. A., & Caudillo A., P. A. (2014). Obesidad y caries dental problemas de salud pública en una población escolar. International journal of odontostomatology, 8(3), 475-480.
5. Zhang, Q., Ma, Q., Wang, Y., Wu, H., & Zou, J. (2021). Molecular mechanisms of inhibiting glucosyltransferases for biofilm formation in *Streptococcus mutans*. International Journal of Oral Science, 13(1), 30.
6. Miller, W. D. (1890). The micro-organisms of the human mouth: the local and general diseases which are caused by them. SS White Dental Mfg. Company.
7. Chen, X., Daliri, E. B. M., Kim, N., Kim, J. R., Yoo, D., & Oh, D. H. (2020). Microbial etiology and prevention of dental caries: exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. Pathogens, 9(7), 569.
8. Caufield, P. W., Cutter, G. R., & Dasanayake, A. P. (1993). Initial acquisition of *mutans streptococci* by infants: evidence for a discrete window of infectivity. Journal of dental research, 72(1), 37-45.
9. Părlătescu, I., Epistatu, D., Pîrvu, R. E., Bohîlțea, R. E., Perlea, P., & Varlas, V. (2021). Impact of delivery mode on oral health. Romanian Journal of Stomatology, 67(3), 139.
10. Matamala S., A., Rivera M., F., & Zaror, C. (2019). Impacto de la caries en la

calidad de vida relacionada con la salud oral de adolescentes: Revisión sistemática y metaanálisis. *International journal of odontostomatology*, 13(2), 219-229.)

11. Duque de Estrada R., J., Hidalgo G., I., & Pérez Q., J. A. (2006). Técnicas actuales utilizadas en el tratamiento de la caries dental. *Revista cubana de Estomatología*, 43(2), 0-0.
12. Díaz A., E. M., San Martín G., L., & Ruiz V., M. (2013). Miedo al dentista e intervenciones para reducirlo. *Anuario de Psicología Clínica y de la Salud/Annuary of Clinical and Health Psychology*, 9, 53-55
13. Matsumoto N., M. (2018). Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Japanese Dental Science Review*, 54(1), 22-29.
14. Waters, C. M., & Bassler, B. L. (2005). Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 21, 319-346.
15. Ojeda G., J. C., Oviedo G., E., & Salas, L. A. (2013). *Streptococcus mutans* y caries dental. *Ces Odontología*, 26(1), 44-56.
16. Almaguer F., A. A., & Olea, J. G. V. (2017). *Ecología oral*. Editorial El Manual Moderno
17. Machado, T., & Reyes L., B. (2021). *Streptococcus mutans*, principal cariogénico de la cavidad bucal. *Progaleno*, 4(3), 209-221.
18. Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A & Brady, L. J. (2019). The biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology spectrum*, 7(1), 10-1128.
19. de Cos, P. S., & Pérez U., E. (2014). Cúrcuma I (*Curcuma longa* L.). *Reduca (Biología)*, 7(2).
20. Fernández H., E. M. (2021). *Curcuma longa* L., de la cocina al botiquín.
21. van Galen, E., Kroes, B., & Llorente, G. G. (2018). Assessment report on *Curcuma longa* L., rhizoma. European Medicines Agency.
22. Manifar, S., Obwaller, A., Gharehgozloo, A., Boorboor Shirazi Kordi, H. R., &

- Akhondzadeh, S. (2012). Curcumin gel in the treatment of minor aphthous ulcer: A randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Medicinal Plants*, 11(41), 40-45.
23. Singh, V., Pathak, A. K., Pal, M., Sareen, S., & Goel, K. (2015). Comparative evaluation of topical application of turmeric gel and 0.2% chlorhexidine gluconate gel in prevention of gingivitis. *National journal of maxillofacial surgery*, 6(1), 67.
24. Portela, L. I. A., Cano, O. A. E., & Valdés, H. (2018). Cúrcuma. Usos terapéuticos en la enfermedad periodontal inflamatoria. *Archivos del Hospital Universitario "General Calixto García"*, 6(1), 78-88
25. Martínez, M., Hurtado, M., Daschner, Á., Giner, R., Morales, F., Portillo, M. R. C., & Talens, P. (2020). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el riesgo asociado al consumo de complementos alimenticios que contienen curcumina como ingrediente. *Revista del Comité Científico*. [Internet], 32, 85-112.
26. Mesa, M. D., Ramírez T., M. C., Aguilera G., C. M., Ramírez B., A., & Gil H., Á. (2000). Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los curcuminoides.
27. Jude, S., Amalraj, A., Kunnumakkara, A. B., Divya, C., Löffler, B. M., & Gopi, S. (2018). Development of validated methods and quantification of curcuminoids and curcumin metabolites and their pharmacokinetic study of oral administration of complete natural turmeric formulation (Cureit™) in human plasma via UPLC/ESI-Q-TOF-MS spectrometry. *Molecules*, 23(10), 2415.
28. EMA (2018). Agencia Europea de Medicamentos. European Union herbal monograph on *Curcuma longa* L., rhizoma. EMA/HMPC/329755/2017.
29. Torres, E., Moreno, R., Tamayo, Y., Hermosilla, R., & Guillén, Z. (2014). Estudio de la actividad antibacteriana del aceite esencial de los rizomas de *Curcuma longa* L. *Química Viva*, 13(2), 123-129.
30. Mustafa, M. W., Ungphaiboon, S., Phadoongsombut, N., Pangsomboon, K., Chelae, S., & Mahattanadol, S. (2019). Effectiveness of an alcohol-free chitosan-curcuminoid mouthwash compared with chlorhexidine mouthwash in denture

stomatitis treatment: a randomized trial. *The journal of alternative and complementary medicine*, 25(5), 552-558.

31. Flynn DL, Rafferty MF, Boctor AM. (1986). Inhibition of 5-hydroxy-eicosatetraenoic acid (5-HETE) formation in intract human neutrophils by naturally-occurring diarylheptanoids: inhibitory activities of curcumin and yakuchinones. *Prostaglandin Leukotrien Med*, 22: 357-360
32. Nishigaki I, Kuttan R, Oku H, Ashoori F, Abe H, Yagi K. (1992). Suppressive effect of curcumin on lipid peroxidation induced in rats by carbon tetrachloride or Co-60 irradiation. *Clin Biochem Nutr*, 13: 23-29.
33. Cohly HHP, Taylor A, Angel MF, Salahudeen AK. (1998). Effect of turmeric, turmerin and curcumin on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced renal epithelial (LLS-PKI) cell injury. *Free Radic Biol Med*, 24(1): 49-54
34. Lutomski J, Kedzia B, Debska W. (1974). Effect of an alcohol extract and of active ingredients from *Curcuma longa* on bacteria and fungi. *Planta Med*, 26(1): 9-19.
35. Tönnesen HH, de Vries H, Karlsen J, van Henegouwen GB. (1987). Studies on curcumin and curcuminoids IX: investigation of the photobiological activity of curcumin using bacterial indicator systems. *J Pharmaceu Sci*, 76: 371-373
36. Benerjee A, Nigam SS. (1978). Antimicrobial efficacy of the essential oil of *Curcuma longa*. *Ind J Med Res*, 68: 864-866.
37. Yasni S, Yoshiie K, Oda H, Sugano M, Imaizumi K. (1993). Dietary *Curcuma xanthorrhiza* Roxb increased mitogenic responses of splenic lymphocytes in rats, and alters population of the lymphocytes in mice. *J Nutri Sci Vitaminol*, 39: 345-354
38. South EH, Exon JH, Hendrix K. (1997). Dietary curcumin enhances antibody responses in rats. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 19: 105-119.
39. Ramírez T. M., Mesa MD, Aguilera CM, Quiles JL, Baró L, Ramírez-Tortosa CL, Martínez V., E, Gil A. (1999). Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 147(2): 371-378

40. Ramírez T. M., Aguilera CM, Carrión G., Ramírez-Boscá A, Gil A. (1998). Curcumin ethanol-aqueous extract inhibits in vitro human LDL lipoperoxidation. Michele J Sadler & Michael Saltmarsh. Functional Foods. The Consumer, the Products and the Evidence. London U.K.
41. González A., J., Claramunt V.í, R. M., Sanz, D., Lavandera, J. L., Alkorta, I., & Elguero, J. (2015). Curcumina y curcuminoides: química, estudios estructurales y propiedades biológicas. An. R. Acad. Farm, 278-310.
42. Si X, Wang Y, Wong J, Zhang J, Mcmanus BM, Luo H. Dysregulation of the Ubiquitin-Proteasome System by Curcumin Suppresses Coxsackievirus B3 Replication. J Virol. 2007;81(7):3142-50
43. Pommier Y, Johnson AA, Marchand C. Integrase inhibitors to treat HIV/AIDS. Nat Rev Drug Discov. 2005;4:236-48.
44. Mazumder A, Raghavan K, Weinstein J, Kohn KW, Pommier Y. Inhibition of human immunodeficiency integrase by curcumin virus type-I. Biochem Pharmacol. 1995;49(8):1165-70.
45. Zorofchian M., S., Abdul Kadir, H., Hassandarvish, P., Tajik, H., Abubakar, S., & Zandi, K. (2014). A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. BioMed research international, 2014.
46. Liu, L., Yang, J., Ji, W., & Wang, C. (2019). Curcumin inhibits proliferation of Epstein–Barr virus-associated human nasopharyngeal carcinoma cells by inhibiting EBV nuclear antigen 1 expression. BioMed Research International, 2019.
47. Lee JW, Hong HM, Kwon DD, Pae H, Jeong HJ. Dimethoxycurcumin, a Structural Analogue of Curcumin, Induces Apoptosis in Human Renal Carcinoma Caki Cells Through the Production of Reactive Oxygen Species, the Release of Cytochrome c, and the Activation of Caspase-3. Korean J Urol 2010;(Cyt c):870-8.
48. Milacic V, Banerjee S, Landis-piwowar KR. Curcumin Inhibits the Proteasome Activity in Human Colon Cancer Cells In vitro and In vivo Curcumin Inhibits the Proteasome Activity in Human Colon Cancer Cells *In vitro* and *In vivo*. Cancer Res. 2008;7283-92.

49. García A., L. L., Olaya Montes Quim, J. H., Sierra Acevedo, J. I., & Padilla Sanabria, L. (2017). Actividad biológica de tres Curcuminoides de *Curcuma longa* L. (Cúrcuma) cultivada en el Quindío-Colombia. *Revista Cubana de plantas medicinales*, 22(1), 0-0.
50. Nutr JCB, Jeong S, Oh G, et al. Synthetic Curcumin Analogue, Induces Heme Oxygenase-1 Expression through Nrf2 Activation in RAW264. 7 Macrophages. *J Clin Biochem Nutr*. 2009;1:79-84.
51. Antony S, Kuttan R, Kuttan G. (1999). Immunomodulatory activity of curcumin. *Immunol Invest*, 28(56): 291-303.
52. Sharma OP. (1976). Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochem Pharmacol*, 25: 1811-1812.
53. Kaul S, Krishnakantha TP. (1997). Influence of retinol deficiency and curcumin/turmeric feeding on tissue microsomal membrane lipid peroxidation and fatty acids in rats. *Mol Cell Biochem*; 175(1-2): 4348.
54. Núñez S., A. A., Cerecero Aguirre, P., Sánchez Vargas, L. O., Robles Navarro, J. B., & Bermeo Escalona, J. R. (2020). Efecto antimicrobiano de curcumina sobre *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. *Nova scientia*, 12(25).
55. García A., L. L., Olaya Montes Quim, J. H., Sierra Acevedo, J. I., & Padilla Sanabria, L. (2017). Actividad biológica de tres Curcuminoides de *Curcuma longa* L.(Cúrcuma) cultivada en el Quindío-Colombia. *Revista Cubana de plantas medicinales*, 22(1), 0-0.
56. Sopher, D. E. (1950). Turmeric: A Geographical Investigation of Cultural Relations in Southeast Asia. *Yearbook of the Association of Pacific Coast Geographers*, 12(1), 11-15.
57. Ybalmea G., Y., Sarmiento, O. F., Rivera, A. Y., & Caballero, R. L. (2022). Efecto antiinflamatorio *in vitro* de *Curcuma longa* sobre macrófagos murinos durante la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 73(3).

58. Lee, K. H., Kim, B. S., Keum, K. S., Yu, H. H., Kim, Y. H., Chang, B. S., ... & You, Y. O. (2011). Essential oil of *Curcuma longa* inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation. *Journal of Food Science*, 76(9), H226-H230.
59. Chirinos Z., A. A. (2020). Efecto del extracto etanólico de *Cúrcuma longa* L. sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
60. Secretaría de Salud. 082. Caries, gingivitis y maloclusión, afecciones bucales más comunes entre la población mexicana [Internet]. gob.mx. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/prensa/082-caries-gingivitis-y-maloclusion-afecciones-bucal-mas-comunes-entre-la-poblacion-mexicana>
61. Obregón M. A., Meza W., Rodríguez K. D., Estévez M., Pérez L., Tavera R., & Enríquez R. (2024). The Antitumoral Effect *In Ovo* of a New Inclusion Complex from Dimethoxycurcumin with Magnesium and Beta-Cyclodextrin. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(8), 4380.
62. Meza W., Estévez M., Alvarez Y., Obregón M., Cassani, J., Ramírez M., ... & Enríquez, R. G. (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.
63. Angulo C., J., & Delgado V., J. (2023). 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*, 51(2), 63-72.
64. de Paula, G. S., Oliveira, M. C., Sales, L. S., Boriollo, M., Rodrigues, L. K. A., Nobre-dos-Santos, M., & Steiner-Oliveira, C. (2021). Antimicrobial photodynamic therapy mediated by methylene blue coupled to  $\beta$ -cyclodextrin reduces early colonizing microorganisms from the oral biofilm. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 34, 102283.
65. Wu, J., Li, J., Xu, F., Zhou, A., Zeng, S., Zheng, B., & Lin, S. (2023). Effective Preservation of Chilled Pork Using Photodynamic Antibacterial Film Based on Curcumin- $\beta$ -Cyclodextrin Complex. *Polymers*, 15(4), 1023.