

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIBACTERIANO Y DE SEGURIDAD
BIOLÓGICA *in vitro* DE EXTRACTOS DE *Clinopodium mexicanum* E *Illicium verum*

Por

AMEYALLI JOCELYN MARTINEZ DELGADO

Como requisito parcial para obtener el Grado de
Doctorado en Ciencias Odontológicas

27 de mayo del 2026

Doctorado en Ciencias Odontológicas

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIBACTERIANO Y DE SEGURIDAD
BIOLÓGICA *in vitro* DE EXTRACTOS DE *Clinopodium mexicanum* E *Illicium verum***

Por

AMEYALLI JOCELYN MARTINEZ DELGADO

Comité de Tesis



Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis

Directora de Tesis



Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda

Codirectora de Tesis



Dr. Uziel Castillo Velázquez

Director Externo



DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIBACTERIANO Y DE SEGURIDAD BIOLÓGICA in vitro DE EXTRACTOS
DE Clinopodium mexicanum E Illicium verum

AMEYALLI JOCELYN MARTÍNEZ DELGADO

JURADO DE TESIS

DRA. HILDA HORTENCIA HERMELINDA TORRE MARTÍNEZ

Presidente

DRA. ROSA ISELA SÁNCHEZ NÁJERA

Secretario

DRA. OSVELIA ESMERALDA RODRÍGUEZ LUIS

1er. Vocal

DR. GUILLERMO CRUZ PALMA

2do. Vocal

DR. MIGUEL ÁNGEL QUIROGA GARCÍA

3er. Vocal

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por tantas bendiciones que me ha mandado toda la vida y permitirme alcanzar todas mis metas.

A mi esposo, **Luis Ortiz Ledezma**, por ser mi apoyo incondicional, por su paciencia, comprensión y amor en cada etapa de este camino. Gracias por caminar siempre a mi lado.

A mis papás, **Maricela y Mario**, por su amor, apoyo y compañía incondicional en cada momento de mi vida.

A mi hermana **Fernanda** y mi cuñado **Enrique**, por su cariño y apoyo.

A mi directora de tesis, **Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis**, gracias por su paciencia, su guía constante y por compartir conmigo no solo su conocimiento, sino también su pasión por la investigación.

A la **Facultad de Odontología**, **Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda** y **Dra. Hilda Hortencia Hermelinda Torre Martínez**, por su apoyo durante su administración.

A la **Dra. Rosa Isela Sánchez Nájera** y **Dr. Guillermo Cruz Palma**, por su apoyo, orientación y acompañamiento durante todo este proceso doctoral.

A mi director externo, **Dr. Uziel Castillo Velázquez**, por su valioso acompañamiento, orientación y disposición durante el desarrollo de este trabajo.

A la **Facultad de Ciencias Biológicas** y la **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**, por abrirnos sus puertas para la realización de este trabajo.

A la **Dra. Jissell Álvarez Sandoval**, por su paciencia y apoyo brindado en cada ensayo.

A **Sonia Margarita Quijano Zúñiga**, por su tiempo y apoyo brindado en el laboratorio.

A mis **maestros** del doctorado, por el aprendizaje transmitido a lo largo de esta etapa.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS.....	iv
LISTA DE TABLAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS	4
3. OBJETIVOS.....	5
3.1 Objetivo general.	5
3.2 Objetivos específicos.....	5
4. ANTECEDENTES	6
4.1 Caries dental.	6
4.2 Epidemiología de la caries dental.....	6
4.3 pH.	7
4.4. Microbioma de la caries dental.....	7
4.4.1 <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Streptococcus sobrinus</i>	8
4.4.2 Metabolismo de la sacarosa como factor de virulencia cariogénica.	9
4.4.3 Interacción de <i>S. mutans</i> y <i>S. sobrinus</i> en la formación del biofilm cariogénico.	11
4.5 Hemólisis.....	12
4.6 Citotoxicidad.	12
4.6.1 Células NIH-3T3.	13
4.7 Fagocitosis.....	14

4.7.1 Macrófagos y fagocitosis en la respuesta inmune innata.	15
4.7.2 Células J774A.1	16
4.8 Herbolaria.	16
4.8.1 <i>Clinopodium mexicanum</i>	18
4.8.2 <i>Illicium verum</i>	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
5.1 Diseño del estudio.	23
5.2 Variables.	23
5.3 Descripción de procedimientos.	24
5.3.1 Identificación taxonómica del material vegetal.....	24
5.3.2 Obtención de los extractos metanólicos por maceración en frío.	25
5.3.3 Caracterización fitoquímica de los extractos.....	27
5.3.4 Preparación del inóculo bacteriano.....	28
5.3.5 Concentraciones de los extractos.....	30
5.3.6 Actividad antibacteriana.	31
5.3.7 Actividad hemolítica.....	32
5.3.8 Citotoxicidad.	34
5.3.9 Efecto fagocítico y supervivencia intracelular.	35
5.4 Consideraciones éticas.....	37
5.5 Validación de los resultados.	38
6. RESULTADOS	39
6.1 Rendimiento de los extractos.....	39
6.2 Caracterización fitoquímica de los extractos.....	39
6.4 Actividad antibacteriana.	41
6.5 Actividad hemolítica.....	45
6.6 Índice de citotoxicidad.....	48
6.7 Efecto fagocítico y supervivencia intracelular.	50

7. DISCUSIÓN.....	55
8. CONCLUSIONES.....	63
9. LITERATURA CITADA.....	67
APÉNDICES	84
Apéndice 1. Carta de aprobación de la investigación por el comité de bioética.	84
Apéndice 2. Consentimiento informado.	88
Apéndice 3. Certificados de identificación del material vegetal.	89
Apéndice 4. Productos generados.....	91

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Células NIH-3T3	13
Tabla 2. Células J774A.1	16
Tabla 3. Tipos de variables.	24
Tabla 4. Pruebas químicas colorimétricas.	28
Tabla 5. Pruebas químicas colorimétricas de los extractos metanólicos de <i>Clinopodium mexicanum</i> e <i>Illicium verum</i>	40
Tabla 6. Actividad antibacteriana del extracto <i>Illicium verum</i> contra <i>S. mutans</i>	42
Tabla 7. Actividad antibacteriana del extracto <i>Illicium verum</i> contra <i>S. sobrinus</i>	43
Tabla 8. Actividad hemolítica de los extractos <i>Clinopodium mexicanum</i> e <i>Illicium verum</i>	46
Tabla 9. Absorbancias de los extractos <i>C. mexicanum</i> e <i>I. verum</i> y control positivo.	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Clinopodium mexicanum</i>	20
Figura 2. <i>Illicium verum</i>	22
Figura 3. Material vegetal.....	25
Figura 4. Proceso de obtención de los extractos metanólicos.	26
Figura 5. Reacciones colorimétricas en extractos metanólicos de <i>C. mexicanum</i> e <i>I. verum</i>	27
Figura 6. Preparación del inóculo.....	30
Figura 7. Concentraciones de los extractos metanólicos de <i>C. mexicanum</i> e <i>I. verum</i>	30
Figura 8. Proceso para la evaluación antimicrobiana mediante el método de Kirby-Bauer.	31
Figura 9. Microplaca con tratamientos y controles para evaluar la actividad hemolítica. ..	33
Figura 10. Proceso para evaluar la actividad hemolítica mediante la técnica de inhibición de hemólisis.....	33
Figura 11. Proceso del ensayo de citotoxicidad mediante el ensayo de MTT.	35
Figura 12. Células de macrófagos J774A.1	36
Figura 13. Proceso del ensayo de fagocitosis y supervivencia intracelular.	37
Figura 14. Extractos metanólicos de <i>Clinopodium mexicanum</i> e <i>Illicium verum</i>	39
Figura 15. Visualización microscópica de <i>S. mutans</i> y <i>S. sobrinus</i> mediante tinción de cristal violeta (100x).....	41
Figura 16. Formación de halos de inhibición del extracto de <i>Illicium verum</i> contra <i>S. mutans</i>	41
Figura 17. Formación de halos de inhibición del extracto de <i>I. verum</i> contra <i>S. sobrinus</i> . ..	43

Figura 18. Formación de halos de inhibición del control positivo (clorhexidina al 0.2%) contra <i>S. mutans</i> y <i>S. sobrinus</i> .	44
Figura 19. Actividad antimicrobiana de <i>Illicium verum</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Streptococcus sobrinus</i> .	45
Figura 20. Evaluación de la toxicidad hemolítica de <i>Clinopodium mexicanum</i> e <i>Illicium</i> <i>verum</i> en eritrocitos humanos.	47
Figura 21. Porcentaje de citotoxicidad en células 3T3 por efecto de <i>Clinopodium</i> <i>mexicanum</i> .	49
Figura 22. Porcentaje de citotoxicidad en células 3T3 por efecto de <i>Illicium verum</i> .	50
Figura 23. Efecto microbicida <i>in vitro</i> de macrófagos tratados con <i>C. mexicanum</i> frente a <i>S.</i> <i>mutans</i> .	51
Figura 24. Efecto microbicida <i>in vitro</i> de macrófagos tratados con <i>C. mexicanum</i> frente a <i>S.</i> <i>sobrinus</i> .	52
Figura 25. Efecto microbicida <i>in vitro</i> de macrófagos tratados con <i>Illicium verum</i> frente a <i>S.</i> <i>mutans</i> .	52
Figura 26. Efecto microbicida <i>in vitro</i> de macrófagos tratados con <i>Illicium verum</i> frente a <i>S.</i> <i>sobrinus</i> .	53
Figura 27. Índice de supervivencia intracelular de <i>S. mutans</i> en macrófagos estimulados con <i>Clinopodium mexicanum</i> vs <i>Illicium verum</i> .	54
Figura 28. Índice de supervivencia intracelular de <i>S. sobrinus</i> en macrófagos estimulados con <i>Clinopodium mexicanum</i> vs <i>Illicium verum</i> .	54

NOMENCLATURA

C. mexicanum: *Clinopodium mexicanum*

CFU: unidades formadoras de colonias

CO₂: dióxido de carbono

CRPMI / RPMI: medio celular usado para cultivos celulares

DMEM: medio de cultivo Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO: dimetilsulfóxido

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

g: gramos

I. verum: *Illicium verum*

MeOH: metanol

mg: miligramos

ml: mililitros

MTT: (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)

nm: nanómetros

PBS: disolución salina tamponada con fosfato

rpm: revoluciones por minuto

S. mutans: *Streptococcus mutans*

S. sobrinus: *Streptococcus sobrinus*

µg: microgramos

µl: microlitros

Tesista: Ameyalli Jocelyn Martinez Delgado
Director de Tesis: Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis
Codirector de Tesis: Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda
Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Odontología

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIBACTERIANO Y DE SEGURIDAD
BIOLÓGICA *in vitro* DE EXTRACTOS DE *Clinopodium mexicanum* E *Illicium verum*

RESUMEN

Introducción: La caries dental es una enfermedad prevalente asociada a *S. mutans* y *S. sobrinus*. La toxicidad de algunos antimicrobianos ha impulsado el interés en alternativas naturales como *C. mexicanum* e *I. verum* por su potencial terapéutico. **Objetivo:** Evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana, hemolítica, citotóxica y fagocítica de los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*. **Metodología:** Se confirmó la identidad taxonómica del material vegetal, se obtuvieron extractos metanólicos de *C. mexicanum* e *I. verum* por maceración en frío y se caracterizaron fitoquímicamente mediante pruebas cualitativas. Se evaluó la actividad antibacteriana contra *S. mutans* y *S. sobrinus* ATCC (60–80 mg/ml), por el método de Kirby-Bauer. La actividad hemolítica se determinó mediante la técnica de inhibición de hemólisis en eritrocitos humanos, la citotoxicidad en células 3T3 mediante MTT y se analizó la actividad microbiciida en macrófagos J774A.1 infectados, calculando los índices de fagocitosis y supervivencia intracelular. Los ensayos se realizaron por triplicado y se analizaron con $p < 0.05$. **Resultados:** Los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* mostraron reacción positiva para la presencia de metabolitos como cumarinas, flavonoides, taninos y esteroides. El extracto de *Illicium verum* presentó actividad antibacteriana frente a *S. mutans* y *S. sobrinus*, con halos de 10.2 y 10.5 mm a 80 mg/ml, comparables a clorhexidina 0.2%, y un efecto dosis-dependiente ($\geq 90\%$ de inhibición). Ambos extractos mostraron hemólisis $>10\%$ ($p < 0.001$) y baja citotoxicidad en células 3T3 (viabilidad $>50\text{--}70\%$; $IC_{50} \approx 1.38 \mu\text{g/ml}$). En macrófagos, el pretratamiento (60–80 mg/ml) moduló significativamente la fagocitosis y la supervivencia intracelular de *S. mutans*, mientras que frente a *S. sobrinus* los efectos dependieron del extracto y la concentración, sin diferencias finales en supervivencia intracelular. **Conclusiones:** *Illicium verum* posee relevante actividad antibacteriana y ambos extractos ejercen efectos inmunomoduladores con baja citotoxicidad *in vitro*.

Tesista: Ameyalli Jocelyn Martinez Delgado
Director de Tesis: Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis
Codirector de Tesis: Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda
Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Odontología

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIBACTERIANO Y DE SEGURIDAD
BIOLÓGICA *in vitro* DE EXTRACTOS DE *Clinopodium mexicanum* E *Illicium verum*

ABSTRACT

Introduction: Dental caries is a prevalent disease associated with *S. mutans* and *S. sobrinus*. The toxicity of some antimicrobials has spurred interest in natural alternatives such as *Clinopodium mexicanum* and *Illicium verum* for their therapeutic potential. **Objective:** To evaluate *in vitro* the antibacterial, hemolytic, cytotoxic, and phagocytic activity of extracts from *Clinopodium mexicanum* and *Illicium verum*. **Methodology:** The taxonomic identity of the plant material was confirmed. Methanolic extracts of *Clinopodium mexicanum* and *Illicium verum* were obtained by cold maceration and phytochemically characterized using qualitative tests. Antibacterial activity against *S. mutans* and *S. sobrinus* ATCC (60–80 mg/ml) was evaluated using the Kirby-Bauer method. Hemolytic activity was determined using the human erythrocyte hemolysis inhibition assay, cytotoxicity in 3T3 cells using the MTT assay, and microbicidal activity in infected J774A.1 macrophages was analyzed by calculating phagocytosis and intracellular survival indices. Assays were performed in triplicate and analyzed with $p < 0.05$. **Results:** Methanolic extracts of *Clinopodium mexicanum* and *Illicium verum* showed a positive reaction for the presence of metabolites such as coumarins, flavonoids, tannins, and sterols. The *Illicium verum* extract exhibited antibacterial activity against *S. mutans* and *S. sobrinus*, with inhibition zones of 10.2 and 10.5 mm at 80 mg/ml, comparable to 0.2% chlorhexidine, and a dose-dependent effect ($\geq 90\%$ inhibition). Both extracts showed hemolysis $>10\%$ ($p < 0.001$) and low cytotoxicity in 3T3 cells (viability $>50\text{--}70\%$; $IC_{50} \approx 1.38 \mu\text{g/ml}$). In macrophages, pretreatment (60–80 mg/ml) significantly modulated phagocytosis and intracellular survival of *S. mutans*, while against *S. sobrinus* the effects depended on the extract and concentration, with no overall difference in intracellular survival. **Conclusions:** *Illicium verum* possesses significant antibacterial activity, and both extracts exert immunomodulatory effects with low cytotoxicity *in vitro*.

1. INTRODUCCIÓN

La caries dental es una de las enfermedades crónicas más prevalentes a nivel mundial y representa un importante problema de salud pública, especialmente en población infantil y adulta joven (Warreth 2023). A nivel mundial, se estima que aproximadamente 2 000 millones de personas presentan caries en dientes permanentes, y 514 millones de niños tienen caries en dientes temporales (Organización Mundial de la Salud, 2025). En México, la caries dental perjudica a más del 90% de la población, el 88% de niños de 2 a 10 años tienen caries en dentición temporal y 86.7% en dentición permanente (Secretaría de Salud, 2020). Su etiología es multifactorial; sin embargo, la colonización y actividad metabólica de bacterias cariogénicas como *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* desempeñan un papel central en la desmineralización del esmalte dental mediante la producción de ácidos a partir de carbohidratos fermentables (Cheng et al. 2022).

La caries dental no tratada puede generar dolor, infecciones, pérdida de la función dental, extracciones dentales, ausentismo escolar y disminución de la productividad, esta enfermedad afecta negativamente la salud general y la calidad de vida relacionada con la salud bucal en todas las edades, evidenciándose en infecciones, deterioro funcional, pérdida dental, ausentismo escolar y pérdidas de productividad (Spatafora et al. 2024). En conjunto, la creciente tolerancia bacteriana y las limitaciones de los agentes antimicrobianos convencionales han impulsado la búsqueda de alternativas terapéuticas más seguras y efectivas (Farzinnia et al. 2025).

En este contexto, los productos de origen vegetal han cobrado interés por su contenido de metabolitos secundarios con actividad biológica. *Clinopodium mexicanum* es un arbusto aromático que pertenece a la familia *Lamiaceae* (Martínez-Gordillo et al. 2013; Martínez-Gordillo et al. 2017), es una especie nativa de México, también se le conoce como poleo, poleo verde y toronjil de menta (Alvarado et al. 2020; Estrada-Reyes et al. 2010). Se ha reportado que presenta compuestos activos como acetato de mentilo, mentol, mentona, pulegona, limoneno, flavonoides libres y glucosilados (Alvarado et al. 2020; Opalchenova y Obreshkova, 1999). *Illicium verum* es una planta tradicional china que ha sido ampliamente estudiada por sus propiedades farmacológicas, se ha reportado que contiene anetol y otros compuestos activos con propiedades antivirales, antibacterianos, antiinflamatorios, antioxidantes, antidiabéticos, antidiarreicos y estimulantes de la inmunidad (Zhu et al. 2024).

Por lo anterior, se propone realizar un estudio experimental, comparativo, longitudinal y prospectivo enfocado en *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, principales bacterias asociadas a la caries dental, con el fin de explorar alternativas terapéuticas que contribuyan a reducir las limitaciones de los antimicrobianos convencionales en odontología.

El uso de productos naturales para el manejo de patologías bucodentales representa una opción viable por su disponibilidad, bajo costo y menores efectos adversos. En este sentido, se busca ampliar el conocimiento sobre el potencial terapéutico *in vitro* de los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*, debido a la escasa información disponible sobre estas especies de origen mexicano.

Por lo que, el objetivo del estudio es evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana, hemolítica, citotóxica y fagocítica de los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*.

En este contexto, se plantea la siguiente pregunta de investigación, ¿En qué medida los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* presentan actividad antibacteriana y un perfil de seguridad biológica *in vitro*, considerando su efecto hemolítico, citotóxico y fagocítico?

2. HIPÓTESIS

Los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* presentan actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* ATCC, además de efectos anti hemolíticos, baja citotoxicidad en células 3T3 y capacidad moduladora de la actividad fagocítica en macrófagos J774A.1 en condiciones *in vitro*, efectos que pueden variar en función de la concentración evaluada.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general.

Evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana, hemolítica, citotóxica y fagocítica de los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*.

3.2 Objetivos específicos.

- a) Analizar el perfil fitoquímico de los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* mediante pruebas químicas colorimétricas.
- b) Determinar la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* frente a *S. mutans* y *S. sobrinus* ATCC mediante la técnica de difusión en disco.
- c) Identificar la actividad hemolítica de los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* en eritrocitos humanos mediante la técnica de inhibición de hemólisis.
- d) Determinar el índice de citotoxicidad en células 3T3 bajo el estímulo de los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*.
- e) Analizar el efecto fagocítico y de supervivencia intracelular de *S. mutans* y *S. sobrinus* en macrófagos J774A.1, en presencia de los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*.

4. ANTECEDENTES

4.1 Caries dental.

La caries dental es una de las enfermedades crónicas más prevalentes a nivel mundial, y su manejo ha evolucionado de manera significativa en los últimos años hacia enfoques preventivos y de mínima intervención (Warreth, 2023).

Se trata de una enfermedad multifactorial asociada con la estructura de los dientes deciduos y permanentes, la patogenicidad del microbiota oral y los microambientes de la cavidad bucal, los cuales están influenciados por factores dietéticos, especialmente el consumo de azúcares, así como por condiciones salivales y genéticas. Décadas de investigación científica han demostrado que la ingesta de azúcar constituye el factor más importante en el inicio y la progresión de la enfermedad. Asimismo, los comportamientos poco saludables, la higiene bucal deficiente y la falta de exposición al fluoruro contribuyen de manera sustancial al desarrollo del proceso cariogénico (Spatafora et al. 2024).

4.2 Epidemiología de la caries dental.

A nivel mundial, se estima que aproximadamente 2 000 millones de personas presentan caries en dientes permanentes, y 514 millones de niños tienen caries en dientes temporales (Organización Mundial de la Salud, 2025). En México, la caries dental perjudica a más del 90% de la población, el 88% de niños de 2 a 10 años tienen caries en dentición temporal y 86.7% en dentición permanente (Secretaría de Salud, 2020).

4.3 pH.

En 1944, Stephan propuso que la relación entre la dieta y la caries dental se debía al descenso del pH en la placa bacteriana. Sus experimentos consistieron en medir el pH de la placa a lo largo del tiempo después de realizar enjuagues con glucosa. Un hallazgo particularmente relevante fue que el pH de la placa podía disminuir por debajo de 5.5, valor considerado crítico para que ocurra la desmineralización del esmalte (Spatafora et al. 2024).

4.4. Microbioma de la caries dental.

El microbioma oral es muy diverso, se han encontrado alrededor de 1000 especies diferentes de microorganismos (Maasi et al. 2022), entre ellos, bacterias, arqueas, virus y hongos, los cuales establecen una red altamente compleja de interacciones tanto entre sí como con el huésped (Bacher et al. 2019). Los estreptococos representan alrededor del 50% del microbiota oral, siendo las especies más comunes *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* (Maasi et al. 2022)

La caries dental es una enfermedad multifactorial en la que intervienen factores microbianos, conductuales, genéticos y ambientales. Aunque todos estos elementos contribuyen a su desarrollo, el papel de los microorganismos resulta fundamental. Debido a que la progresión de la caries está estrechamente vinculada con la actividad del microbiota oral, es indispensable contar con una comprensión integral de la microbiología de esta enfermedad (Zhang et al. 2022a).

En este contexto, las bacterias orales producen ácidos como subproductos del metabolismo de los carbohidratos de la dieta. Dado que esta acidogénesis bacteriana constituye el evento

inicial que precede a la desmineralización dental, la respuesta sistémica del huésped frente a la infección bacteriana también desempeña un papel relevante en el riesgo de desarrollar caries dental (Spatafora et al. 2024).

4.4.1 Streptococcus mutans y Streptococcus sobrinus.

Streptococcus mutans y *Streptococcus sobrinus* son los microorganismos más estrechamente asociados con la caries dental. *S. mutans* ha sido identificado como el principal patógeno implicado en la iniciación de la caries, mientras que *S. sobrinus* se considera un importante contribuyente en la aceleración de la progresión de la lesión (Deng et al. 2025).

Streptococcus mutans fue aislado por primera vez en 1924 por J. Clarke, quien reportó su presencia en numerosas lesiones cariosas incipientes y describió su marcada capacidad para desmineralizar secciones dentarias. Asimismo, destacó que se trataba de un microorganismo fuertemente acidogénico y altamente adherente a la superficie dental (Clarke, 1924). Morfológicamente, es un coco grampositivo que se dispone típicamente en cadenas; es inmóvil y no forma esporas. Además, fermenta azúcares como manitol y sorbitol y posee la capacidad de sintetizar glucanos solubles e insolubles a partir de la sacarosa (Negroni, 2016).

En la fase inicial de la caries dental, diversos estudios han demostrado la estrecha asociación de *S. mutans* con la biopelícula cariogénica y con el inicio del proceso carioso. Por otro lado, *Streptococcus sobrinus* se reconoce como la segunda especie en importancia dentro del grupo *mutans*. (Negroni, 2016).

Streptococcus sobrinus es un coco grampositivo perteneciente al grupo *mutans* y se considera uno de los principales microorganismos asociados con la caries dental, particularmente con la progresión rápida de las lesiones. Morfológicamente se dispone en cadenas cortas, es inmóvil y presenta una elevada capacidad acidúrica. Además, posee glucosiltransferasas que sintetizan glucanos extracelulares a partir de la sacarosa, lo que favorece la adhesión bacteriana y la formación de la biopelícula cariogénica. (Takahashi y Nyvad, 2011; Negroni, 2016).

4.4.2 Metabolismo de la sacarosa como factor de virulencia cariogénica.

La sacarosa, un metabolito clave para los patógenos asociados a la caries, se hidroliza con facilidad en glucosa y fructosa, ambos monosacáridos sirven como sustratos para la fermentación bacteriana, lo que conduce a la producción de ácido láctico (Spatafora et al. 2024).

Streptococcus mutans y *Streptococcus sobrinus*, son capaces de producir grandes cantidades de glucanos extracelulares a partir de la fermentación de sacarosa, producir ácido que excede las capacidades de amortiguación salival, favoreciendo la adhesión firme a las superficies dentales y promoviendo la formación de placa dental (Almoudi et al. 2023; Wakamatsu et al. 2026).

En las bacterias cariogénicas, el metabolismo de la sacarosa se lleva a cabo mediante tres procesos: la producción de ácidos, la síntesis de polisacáridos extracelulares y la formación de polisacáridos intracelulares.

Producción de ácidos. La mayor parte de la sacarosa que ingresa a la cavidad bucal es utilizada por los microorganismos como fuente de energía. Dentro de la célula bacteriana, la enzima invertasa hidroliza la sacarosa en glucosa y fructosa. Posteriormente, mediante procesos de fosforilación, estos azúcares se transforman en glucosa-6-fosfato. Por acción de la sacarosa-6-fosfato hidrolasa se generan glucosa-6-fosfato y fructosa, las cuales son metabolizadas a través de la vía glucolítica de Embden-Meyerhof-Parnas. Este proceso produce principalmente ácido láctico y, en menor proporción, formiato, acetato y etanol. La acumulación de estos ácidos provoca la disminución del pH en el biofilm dental y favorece la desmineralización del esmalte.

Polisacáridos extracelulares. Antes de que la sacarosa ingrese por completo a la célula, una fracción es transformada por exoenzimas de *S. mutans*. Estas enzimas rompen la molécula de sacarosa y transfieren las hexosas a moléculas receptoras, originando polímeros que pueden difundirse al medio o permanecer adheridos a la superficie bacteriana. Entre los principales polisacáridos extracelulares se encuentran los glucanos solubles (dextranos), los glucanos insolubles (mutanos) y los fructanos (levanos). Su síntesis depende principalmente de las enzimas glucosiltransferasas y fructosiltransferasas, las cuales hidrolizan la sacarosa y van incorporando los residuos glucosídicos o fructosídicos a los polímeros en crecimiento. Funcionalmente, los glucanos solubles actúan como reservorio extracelular de azúcares y pueden ser degradados por dextranasas. En cambio, los mutanos, debido a su carácter insoluble y altamente adhesivo, favorecen la unión bacteriana y la formación del biofilm dental. Los levanos funcionan como reserva energética, ya que se sintetizan cuando existe abundancia de nutrientes y se degradan durante periodos de escasez. Aunque *S. mutans* posee una fructosiltransferasa extracelular capaz de producir levanos liberando glucosa como

residuo, hasta ahora no se ha demostrado una relación directa entre la producción de fructanos y la cariogenicidad. Asimismo, la invertasa puede liberar glucosa y fructosa al medio externo, facilitando su posterior entrada a la célula; también existe una forma intracelular de esta enzima.

Polisacáridos intracelulares. Una vez que la glucosa y la fructosa penetran en la célula, su destino principal es la vía glucolítica. Sin embargo, cuando hay exceso de azúcares, la bacteria sintetiza polisacáridos intracelulares que funcionan como reservas energéticas. La formación de estos compuestos está estrechamente relacionada con la glucólisis y con los niveles celulares de ATP. En condiciones de escasez de nutrientes, estos polisacáridos intracelulares se degradan y generan una producción adicional de ácidos, lo que contribuye a mantener un ambiente ácido y cariogénico incluso entre los periodos de consumo de azúcar (Negroni, 2016).

4.4.3 Interacción de *S. mutans* y *S. sobrinus* en la formación del biofilm cariogénico.

El biofilm dental es una comunidad microbiana estructurada que se adhiere a las superficies dentarias y está embebida en una matriz extracelular de origen bacteriano. Esta matriz, compuesta principalmente por polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos, permite la adhesión, protección y comunicación entre los microorganismos, favoreciendo su persistencia en la cavidad oral (Marsh, 2006).

El biofilm juega un papel fundamental en la etiopatogenia de la caries dental, ya que crea un microambiente propicio para la desmineralización del esmalte. Dentro de los microorganismos asociados al biofilm cariogénico, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus*

sobrinus, pertenecientes al grupo mutans, son considerados agentes clave en el desarrollo de la caries dental. Estas bacterias poseen la capacidad de adherirse firmemente a la superficie del diente mediante la síntesis de glucanos insolubles a partir de la sacarosa, proceso catalizado por enzimas glucosiltransferasas. Estos glucanos facilitan la formación y estabilidad del biofilm, incrementando la acumulación bacteriana (Loesche, 1986; Okada et al. 2005).

4.5 Hemólisis.

La hemólisis es el proceso mediante el cual ocurre la ruptura de los eritrocitos, lo que provoca la liberación de hemoglobina y otros componentes intracelulares al medio extracelular. Este fenómeno puede ser inducido por factores físicos, químicos o biológicos que alteran la integridad de la membrana celular. La membrana de los eritrocitos está compuesta principalmente por una bicapa lipídica asociada a proteínas estructurales, lo que la hace susceptible a la acción de compuestos que interfieren con su estabilidad. La evaluación de la actividad hemolítica de extractos vegetales constituye un parámetro fundamental en la determinación de su seguridad biológica, ya que permite analizar el efecto de compuestos bioactivos sobre la integridad de la membrana de los eritrocitos humanos (Elizondo-Luevano et al. 2024).

4.6 Citotoxicidad.

El estudio de la citotoxicidad de compuestos derivados de plantas ha cobrado gran relevancia en la investigación biomédica, particularmente en la búsqueda de agentes terapéuticos con potencial anticancerígeno (Cragg y Newman, 2013).

Para evaluar la citotoxicidad de los compuestos vegetales, uno de los métodos más utilizados es el ensayo colorimétrico de MTT. Este ensayo se basa en la capacidad de las células viables de reducir el bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) a formazán insoluble mediante la acción de enzimas mitocondriales, particularmente las deshidrogenasas. La cantidad de formazán producido es proporcional al número de células metabólicamente activas, lo que permite determinar la viabilidad celular tras la exposición a diferentes concentraciones de extractos vegetales (Mosmann, 1983). Asimismo, el ensayo MTT permite determinar parámetros importantes como la concentración inhibitoria media (IC₅₀), que representa la concentración necesaria del extracto para reducir la viabilidad celular en un 50%. Este valor es fundamental para comparar la potencia citotóxica entre distintos extractos o compuestos (Riss et al. 2016).

4.6.1 Células NIH-3T3.

Las células NIH-3T3 son una línea celular de fibroblastos derivada del tejido de un embrión de ratón NIH Swiss. Destacan especialmente por su utilidad en estudios genéticos, además, se emplean en la investigación oncogénica, concretamente en ensayos para la identificación y caracterización de genes causantes de cáncer (Cytion, 2025b).

Tabla 1. Células NIH-3T3

Organismo	Ratón
Tejido	Embrión
Edad	Embrión
Género	Hombre
Tipo de célula	Fibroblastos

(Cytion, 2025b).

4.7 Fagocitosis.

La fagocitosis es un proceso celular para ingerir y eliminar microorganismos, sustancias extrañas y células apoptóticas. Los encargados de realizar esta función, son los fagocitos que se dividen en profesionales que son los responsables de eliminar microorganismos y de presentar antígenos a los linfocitos con el fin de activar una respuesta inmune adaptativa, entre ellos se encuentran los macrófagos, neutrófilos, monocitos, células dendríticas y osteoclastos; y los fagocitos no profesionales, estos no pueden ingerir microorganismos, pero son importantes para eliminar las células muertas y mantener la homeostasis, entre ellos están los fibroblastos, células epiteliales y células endoteliales (Gordon, 2016; Rabinovitch, 1995; Uribe-Querol y Rosales 2020). El fagolisosoma es el orgánulo microbicida fundamental, equipado con mecanismos sofisticados para degradar microorganismos (Uribe-Querol y Rosales 2020).

El proceso de fagocitosis implica varias fases:

- a) Detección de la partícula objetivo. Los receptores que reconocen directamente los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) son los receptores de reconocimiento de patrones (PRR).
- b) Activación del proceso de internalización. Se activan los mecanismos de señalización como los receptores Fc y los receptores de complemento para iniciar la fagocitosis, después, la se lleva a cabo la reorganización del citoesqueleto de la actina y los cambios en la membrana, lo que resulta en una depresión del área de la membrana que toca la partícula.
- c) Formación de fagosoma. Cuando los receptores fagocíticos activan las vías de señalización, se cambia la composición de la membrana y controlan el citoesqueleto

de la actina, lo que resulta en la formación de protuberancias de membrana para cubrir la partícula que se fusionan en el extremo distal creando el fagosoma, que es una nueva vesícula que se pellizca de la membrana plasmática de la partícula ingerida.

- d) Maduración del fagosoma. El fagosoma transforma su composición de membrana y su contenido para convertirse en fagolisosoma. Esta etapa consiste en interacciones de fusión y fisión entre el fagosoma y las endosomas tempranas, después entre las endosomas tardías y finalmente entre los lisosomas para convertirse en fagolisomas y encargarse de degradar la partícula ingerida (Uribe-Querol y Rosales 2020).

4.7.1 Macrófagos y fagocitosis en la respuesta inmune innata.

Los macrófagos son células fagocíticas esenciales que reconocen, internalizan y destruyen patógenos y restos celulares, constituyendo una de las primeras líneas de defensa del organismo. Este proceso de fagocitosis es fundamental para la eliminación de microorganismos invasores, la presentación de antígenos y la regulación de la respuesta inmune subsecuente. La fagocitosis en macrófagos se ve influenciada por múltiples factores fisicoquímicos y biomecánicos del microambiente, como la rigidez del sustrato y las tensiones mecánicas, que modulan su capacidad de ingestión y respuesta funcional. Además de su papel tradicional en la captura y degradación de partículas, los macrófagos utilizan mecanismos asociados a cascadas de señalización y producción de especies reactivas para potenciar la eliminación de patógenos tras el reconocimiento por receptores de superficie.

Este papel central de los macrófagos en la fagocitosis subraya su importancia no solo en la defensa contra infecciones, sino también en la modulación de procesos inflamatorios y en la interacción con otros componentes del sistema inmunitario, lo que los convierte en objetivos

clave tanto para comprender la respuesta inmune como para desarrollar estrategias terapéuticas (Chen et al. 2023).

4.7.2 Células J774A.1

La línea celular J774A.1 se derivó del tumor de ascitis de un ratón BALB/c/NIH hembra durante un tratamiento inductor de plasmocitoma. Se ha utilizado en diversos estudios de inmunología y enfermedades infecciosas. Son una herramienta valiosa para estudiar la función de los macrófagos, la síntesis de citocinas y la respuesta inmunitaria a diversos antígenos y patógenos (Cytion, 2025a).

Tabla 2. Células J774A.1

Organismo	Ratón
Tejido	Retículo
Edad	Adultos
Género	Mujer
Tipo de célula	Macrófagos

(Cytion, 2025a).

4.8 Herbolaria.

En las zonas rurales de los países en desarrollo, aproximadamente el 25% de los medicamentos utilizados se basan en la medicina herbolaria (Guo et al. 2020; Singer y Bourauel, 2023). Esta situación responde a múltiples factores, entre ellos la limitada accesibilidad a los servicios de salud, las barreras económicas y la fuerte presencia de tradiciones culturales que favorecen el uso de remedios naturales. En el caso de México, las enfermedades bucales representan un problema de alta prevalencia en comunidades rurales;

sin embargo, los servicios odontológicos suelen ser costosos, de difícil acceso y, en muchos casos, no son considerados una prioridad de atención inmediata por parte de la población. Como consecuencia, estas comunidades optan por el uso de medicina alternativa para el tratamiento de afecciones bucodentales, recurriendo principalmente a plantas medicinales disponibles en su entorno (Cruz-Martínez et al. 2017).

La medicina herbolaria se fundamenta en el empleo de plantas completas, sus partes (hojas, raíces, tallos, flores) o extractos obtenidos mediante distintos procesos, con el objetivo de prevenir, aliviar o tratar diversas enfermedades, incluidas las de origen bucal (Anushya et al. 2020; Moghadam et al. 2020; Singer y Bourauel, 2023). Este tipo de medicina no solo forma parte del conocimiento tradicional transmitido de generación en generación, sino que en las últimas décadas ha cobrado relevancia en la investigación científica, debido a la necesidad de encontrar alternativas terapéuticas más accesibles, seguras y efectivas. Su resurgimiento también está relacionado con el incremento en la incidencia de enfermedades infecciosas, el desarrollo de resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales, la aparición de infecciones oportunistas y el elevado costo de los tratamientos farmacológicos actuales (Singer y Bourauel, 2023).

En este contexto, la utilización de extractos de plantas medicinales ha demostrado, en diversos estudios, una eficacia clínica comparable e incluso superior en ciertos casos, además de presentar menores efectos adversos en comparación con algunos fármacos sintéticos. Esto se atribuye principalmente a la presencia de metabolitos secundarios, compuestos bioactivos producidos por las plantas como resultado de su metabolismo. Estos incluyen esteroides, alcaloides, compuestos fenólicos, lignanos, carbohidratos y glucósidos, entre otros. Dichos

metabolitos poseen una amplia variedad de propiedades biológicas, tales como actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antifúngica, antioxidante, antialérgica e incluso anticancerígena, lo que los convierte en candidatos potenciales para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos en el ámbito odontológico (Arumugam et al. 2020; Tran et al. 2020).

4.8.1 *Clinopodium mexicanum*.

Clinopodium mexicanum pertenece a la familia *Lamiaceae* (Martínez-Gordillo et al. 2017), en México se le conoce también como poleo, poleo verde y toronjil de menta (Alvarado et al. 2020; Estrada-Reyes et al. 2010). Es un arbusto aromático, el tallo está cubierto de tricomas, sus hojas son ovadas con hojas de margen serradas o serruladas, tiene flores solitarias en las axilas de las hojas superiores. El cáliz mide hasta 6 mm de longitud y tiene forma de tubo con 13 venas evidentes y con un anillo de pelo en el interior, y el ápice se divide en cinco pequeñas. La corola es roja o naranja con una forma tubular y mide de 2.2 a 3.4 cm de longitud. Está ligeramente arqueado, se extiende hacia el ápice, se divide en dos labios; el labio superior está erecto y el inferior se divide en tres lóbulos. Tiene cuatro estambres, dos de los cuales son más largos (Alvarado et al. 2020; Epling y Játiva, 1966; Standley, 1922).

Datos geográficos. *Clinopodium mexicanum* es una especie nativa de México, ubicada en los estados de Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Veracruz (Martínez-Gordillo et al. 2017; Villaseñor, 2016), se encuentra principalmente en regiones de clima templado subhúmedo (Alvarado et al. 2020).

Compuestos activos. En 1978 se reportó que el aceite esencial de poleo presentaba acetato de mentilo (34.3%), mentol (4.2%), mentona (42.5%), pulegona (5.5%) y limoneno (13.5%). Así mismo, se ha reportado que dentro de los principales compuestos del aceite esencial eran el el pulegón, la piperitona y la d-carvona (Alvarado et al. 2020) y la presencia de flavonoides libres y glucosilados (Opalchenova y Obreshkova, 1999).

Propiedades. *Clinopodium mexicanum* se utiliza en la medicina tradicional se han utilizado como remedio para las enfermedades nerviosas, para inducir el sueño y como agente sedante y analgésico, para tratar las dolencias reproductivas gastrointestinales y femeninas y para la preparación de aperitivos y bebidas digestivas debido a su agradable sabor. Las maceraciones se utilizan como anestesia tópica para el reumatismo (Alvarado et al. 2020; Estrada-Reyes, 2010; García, 1982).

Identificación taxonómica:

- Reino: Plantae
- División: Angiospermas
- Clase: Eudicotiledóneas
- Orden: Lamiales
- Familia: Lamiaceae
- Subfamilia: Nepetoideae
- Tribu: Mentheae
- Subtribu: Menthinae
- Género: *Clinopodium*
- Especie: *Clinopodium mexicanum* (Benth.) Govaerts (Selina Wamucii, s.f.).

Figura 1. *Clinopodium mexicanum*.



4.8.2 *Illicium verum*.

Illicium verum, comúnmente denominado anís estrella, es un árbol o arbusto perenne, densamente ramificado, que puede alcanzar entre 8 y 15 m de altura y pertenece a la familia *Schisandraceae*. La corteza de esta especie presenta tonalidades que van del blanco al gris claro. Sus hojas, de color verde claro, son alternas, coriáceas y de forma lanceolada, con una longitud aproximada de 6 a 12 cm, y se localizan principalmente en los extremos de las ramas. Las flores son solitarias, bisexuales y muestran coloraciones que varían entre blanco-amarillento y verdoso, con diámetros que oscilan de 1 a 7 cm; pueden aparecer aisladas o agrupadas en pequeños racimos. El fruto es característicamente estrellado y está compuesto por 6 a 10 folículos en forma de cápsula, cada uno de los cuales contiene una pequeña semilla de color marrón. Estas semillas son ovoides y presentan una superficie lisa y brillante. Todas las partes del fruto se distinguen por su aroma intenso y característico.

Datos geográficos. La especie se puede encontrar en hábitats naturales en el sureste de China y Vietnam. Sin embargo, se cultiva también en Marruecos, India, Filipinas, España, Francia e Italia (Sharafan et al. 2022).

Compuestos activos. Los principales compuestos químicos presentes en *Illicium verum* corresponden a diversas clases de metabolitos secundarios, entre las que destacan fenilpropanoides, flavonoides, neolignanós, monoterpenoides y sesquiterpenoides. El componente predominante del aceite esencial obtenido del fruto es el fenilpropanoide trans-anetol, considerado el principal responsable de sus propiedades biológicas. Además del trans-anetol, el aceite esencial contiene otros compuestos en menores proporciones, como estragol (p-alil anisol o metil chavicol) (~2 %), limoneno (~2 %) y cis-anetol (~0,5 %). También se han identificado diversos monoterpenoides —entre ellos α -pineno, p-cimeno, eugenol, linalool, camfeno, β -mirceno, trans-ocimeno, terpineno-4-ol, α -terpineol, γ -terpineol, terpinol y γ -terpineno— así como sesquiterpenoides como trans- α -bergamoteno, α -copaeno, cubebeno, cipereno, (+)-9-epiledeno, β -elemeno, α -felandreno, foeniculina, α -cariofileno, β -cariofileno y α -muuroleno. De manera adicional, en *I. verum* se han detectado otros compuestos volátiles y aromáticos, entre ellos p-anisaldehído, 2-(1-ciclopentenil)-furano, tiocianoacetato de isobornilo y trans-calcona. En conjunto, los compuestos activos de esta especie incluyen monoterpenoides, lignanos, fenilpropanoides, sesquiterpenoides, flavonoides y otros metabolitos volátiles. Asimismo, se ha reportado la presencia de compuestos amargos, taninos y aceites esenciales como limoneno, trans-anetol, β -felandreno, α -pineno, farnesol, α -terpineol y safrol, los cuales contribuyen a su perfil fitoquímico y a sus actividades biológicas (Sharafan et al. 2022; Singh y Verma, 2024).

Propiedades. Además de su uso como especia culinaria, el anís estrellado (*Illicium verum*) constituye un componente importante de la medicina tradicional china y es ampliamente reconocido por sus efectos antivirales. Esta especie vegetal es la principal fuente natural de ácido shikímico, molécula precursora utilizada en la síntesis de oseltamivir (Tamiflu®),

un fármaco antiviral empleado para el tratamiento de la influenza A y B. Más allá de su potencial antiviral, el anís estrellado presenta un amplio espectro de propiedades biológicas. Entre ellas se incluyen actividades antioxidantes, antimicrobianas, antibacterianas, antifúngicas, antihelmínticas e insecticidas, así como efectos secretolíticos, expectorantes, espasmolíticos, sedantes y estrogénicos. También se le han atribuido propiedades antinociceptivas, antiinflamatorias, gastroprotectoras, antidiabéticas y antidiarreicas, además de efectos estimulantes del sistema inmunológico y promotores del crecimiento del cabello (Zhu et al. 2024; Patra et al. 2020).

Identificación taxonómica:

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta (Angiospermas)
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Austrobaileyales
- Familia: Schisandraceae
- Género: *Illicium*
- Especie: *Illicium verum* Hook. f. (Royal Botanic Gardens, s.f.).

Figura 2. *Illicium verum*.



5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Diseño del estudio.

El presente estudio corresponde a un diseño experimental, comparativo, longitudinal y prospectivo, en el cual se evaluarán los efectos de los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* en diferentes momentos y condiciones, permitiendo analizar y comparar los resultados obtenidos a lo largo del tiempo bajo condiciones controladas.

5.2 Variables.

Para la investigación planteada, se establecen como variables independientes los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*, estas variables se manejan en una escala de medición nominal, determinada por la presencia o ausencia de principios activos. Por otra parte, las variables dependientes corresponden a los efectos biológicos evaluados *in vitro*. En primer lugar, se analiza el efecto antibacteriano, medido en una escala de intervalo a través de los halos de inhibición frente a *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, expresados en milímetros, así como mediante el porcentaje de efecto inhibitorio relativo. Asimismo, se evalúa el efecto hemolítico *in vitro*, el cual se mide en una escala ordinal considerando la actividad hemolítica en función de la concentración (mg/ml) y el porcentaje de hemólisis. De igual manera, se determina el efecto citotóxico *in vitro*, evaluado mediante una escala ordinal a través del índice de citotoxicidad (IC₅₀) en células 3T3. Finalmente, se incluye el efecto fagocítico *in vitro*, medido en una escala discreta como el número de bacterias fagocitadas por macrófago (Tabla 3).

Tabla 3. Tipos de variables.

Tipo de variable	Variable	Escala de medición	Definición conceptual
Variables independientes	Extracto metanólico de <i>Clinopodium mexicanum</i>	Nominal: positivo o negativo a presencia de principios activos	Sustancia obtenida por extracción de la planta <i>Clinopodium mexicanum</i> con el solvente metanol.
	Extracto metanólico de <i>Illicium verum</i>	Nominal: positivo o negativo a presencia de principios activos	Sustancia obtenida por extracción de la planta <i>Illicium verum</i> con el solvente metanol.
Variables dependientes	Efecto antibacteriano <i>in vitro</i>	De intervalo: halos de inhibición sobre <i>S. mutans</i> y <i>S. sobrinus</i> (mg/ml) y porcentaje del efecto inhibitorio relativo.	Capacidad de evitar el crecimiento o muerte de bacterias.
	Efecto hemolítico <i>in vitro</i>	Ordinal: actividad hemolítica (mg/ml) y porcentaje de hemólisis.	Destrucción de grandes cantidades de glóbulos rojos
	Efecto citotóxico <i>in vitro</i>	Ordinal: índice de citotoxicidad (IC ₅₀) en células 3T3.	Evaluación del daño a las células o los tejidos.
	Efecto fagocítico <i>in vitro</i>	Discreta: número de bacterias fagocitadas por macrófago.	Capacidad de los macrófagos para internalizar y digerir bacterias.

5.3 Descripción de procedimientos.

5.3.1 Identificación taxonómica del material vegetal.

La planta de *Clinopodium mexicanum* se obtuvo en local de supermercados de Matehuala, San Luis Potosí, mientras que *Illicium verum* se adquirió en un local de supermercados de Sorona (Figura 3).

Para la realización de este estudio se empleó la parte aérea de *Clinopodium mexicanum*, mientras que en el caso de *Illicium verum* se utilizó el fruto seco. Un ejemplar de cada material vegetal fue entregado para la identificación taxonómica en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FCB-UANL), con el propósito de verificar que correspondiera a las especies vegetales objeto de investigación en el proyecto.

Figura 3. Material vegetal.



5.3.2 Obtención de los extractos metanólicos por maceración en frío.

Para la obtención de los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* se empleó la técnica de maceración en frío. Se procedió a macerar el material vegetal; se pesaron 100 g en una balanza analítica y se transfirieron a un matraz. Se añadieron 550 ml de metanol (MeOH) como solvente para la primera extracción, se selló el matraz con papel filtro y se cubrió con papel aluminio para evitar la exposición a la luz, previniendo posibles efectos por fotosensibilidad del material vegetal. Posteriormente, los matraces se colocaron en un agitador tipo Shaker a 30 rpm a temperatura ambiente durante 24 horas. El líquido obtenido se filtró mediante un embudo con papel filtro de poro abierto, recolectando únicamente el filtrado. Se realizó una segunda extracción del material vegetal, agregando 500

ml adicionales de MeOH como solvente, y el líquido filtrado se transfirió a un Rotavapor (Heidolph® Rotary Evaporator, Laborota 4010) para separar el solvente del extracto, realizando ciclos de 110 ml a 100 rpm a 23 °C durante 40 minutos. El extracto concentrado se colocó en un horno de secado a temperatura ambiente, protegido de la luz, durante 48 horas para asegurar la eliminación completa del solvente residual. Una vez seco, se pesó el extracto en una balanza analítica para determinar la masa final en gramos. Se calculó el porcentaje de rendimiento del extracto mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Rendimiento del extracto} = \frac{\text{Masa final (g)}}{\text{Masa inicial (g)}} \times 100$$

Finalmente, los extractos se conservaron refrigerados a 4 °C, protegidos de la luz (Figura 4) (Azwanida, 2015; Cárdenas-Garza et al. 2021; Elizondo-Luévano et al. 2022).

Figura 4. Proceso de obtención de los extractos metanólicos.



5.3.3 Caracterización fitoquímica de los extractos.

El perfil fitoquímico del material vegetal se realizó mediante métodos químicos para la identificación de grupos funcionales (Figura 5). En estas determinaciones, la presencia de los compuestos se evaluó de manera cualitativa, clasificándose como ligeramente positivo (+), moderadamente positivo (++), altamente positivo (+++), o negativo (–), de acuerdo con la intensidad del color observado (Dubale et al. 2023). Los grupos de compuestos se analizaron mediante las siguientes pruebas: Liebermann-Burchard, hidróxido de sodio al 10%, Baljet y ácido sulfúrico en una placa de porcelana, asimismo, se llevaron a cabo las pruebas de Shinoda, prueba de la espuma, cloruro férrico, Antrona y Dragendorff en tubos de ensayo, siguiendo las descripciones detalladas en la Tabla 4 (Cárdenas-Garza et al. 2021; Delgado et al. 2020; Guillén-Meléndez et al. 2021).

Figura 5. Reacciones colorimétricas en extractos metanólicos de *C. mexicanum* e *I. verum*.

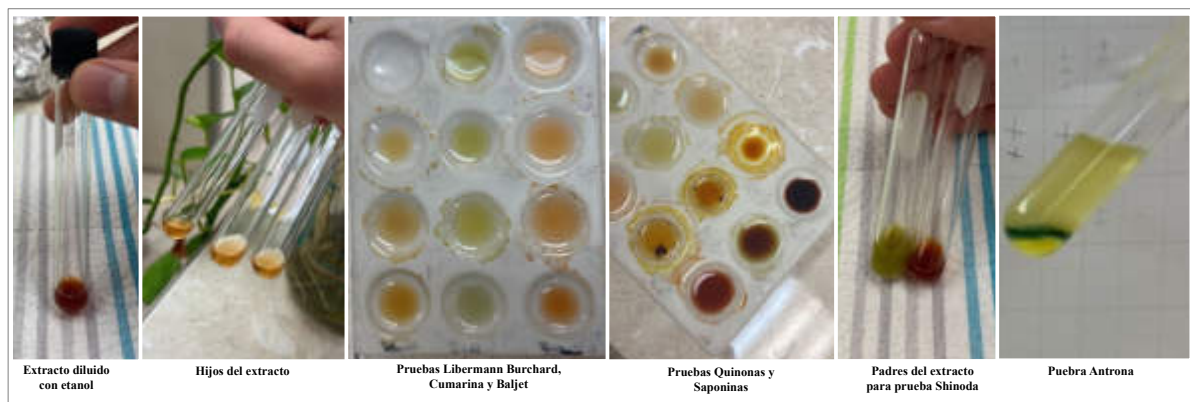


Tabla 4. Pruebas químicas colorimétricas.

Prueba química	Metodología	Fitoquímicos	Reacción positiva
Liebermann Burchard	2 gotas del reactivo (una gota de ácido sulfúrico a una mezcla de 1.0 ml de anhídrido acético y 1.0 ml de cloroformo)	Esteroles Triterpenos	Violeta-morado Rojiza
Hidróxido de sodio al 10%	2 gotas de una solución acuosa o alcohólica dando un color amarillo o anaranjado que desaparece al agregar 2 gotas de HCl al 10% Solución A: 1 g de ácido pícrico en 100mL de etanol)	Cumarinas	-
Baljet	Solución B: 10 g de hidróxido de sodio en 100 ml de agua)	Sesquiterpenlactonas	Naranja-rojo oscuro
Ácido sulfúrico	2 gotas de ácido sulfúrico concentrado	Quinonas	Rojo
Prueba de la espuma	2 gotas de agua destilada sobre el extracto.	Saponinas	Formación de espuma densa y estable
Shinoda	Limaduras de magnesio y unas gotas de ácido clorhídrico	Flavonoides	Rojo Verde-violeta
Cloruro férrico	2 gotas de la solución de cloruro férrico en agua al 2.5%;	Taninos	Oscuro
Antrona	3 gotas del reactivo (1g de alfa naftol en 100 ml de etanol al 95% y se agita, después se inclina el tubo y se depositan 2 ml de ácido sulfúrico concentrado por la pared. Solución A: 0.85g de nitrato de bismuto, 10 ml ácido acético glacial y 40 ml de agua.	Carbohidratos	Formación de anillo azul-verdoso en la interfase.
Dragendorff	Solución B: 8 g de yoduro de potasio y 20 ml de agua.	Alcaloides	Rojo-naranja

(Treviño-Garza et al. 2023)

5.3.4 Preparación del inóculo bacteriano.

Activación de los microorganismos. Las bacterias de *S. mutans* y *S. sobrinus* ATCC, fueron proporcionadas por el laboratorio de microbiología oral de la Facultad de Odontología de la UANL. La activación se realizó en una campana de flujo laminar, inoculándose 100 µl en 1

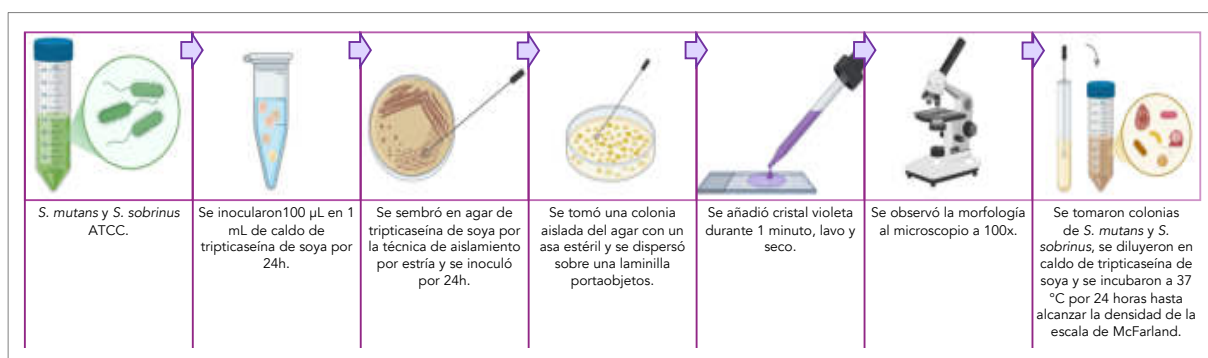
ml de caldo de tripticaseína de soya, y colocando la mezcla en tubos Eppendorf sellados con papel Parafilm. Los tubos se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Siembra por aislamiento. Se tomó una alícuota de inóculo de *S. mutans* y *S. sobrinus* previamente cultivada y se inoculó sobre agar de tripticaseína de soya mediante la técnica de aislamiento por estría. La superficie de la placa se dividió en tres zonas, esterilizando el asa entre cada una de ellas para evitar contaminación cruzada. Una vez realizada la siembra, las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Tinción simple. Se efectuó la tinción simple para la identificación morfológica de las cepas de *S. mutans* y *S. sobrinus*. Se tomó una colonia aislada del agar con un asa estéril y se dispersó sobre una laminilla portaobjetos con agua destilada estéril. La muestra se fijó pasando la laminilla por la flama del mechero. Posteriormente, se añadieron gotas de cristal violeta sobre la muestra durante 1 minuto, se retiró el exceso de colorante y se lavó con agua destilada. La laminilla se secó mediante contacto con papel filtro Whatman n° 1 y, finalmente, se observó la morfología de las cepas al microscopio a 100x.

Escala de McFarland. Se tomaron colonias de *S. mutans* y *S. sobrinus* con un asa bacteriológica y se diluyeron en tubos de ensayo con caldo de tripticaseína de soya, incubándose a 37 °C durante 24 horas hasta alcanzar la densidad correspondiente a la escala de McFarland (Figura 6).

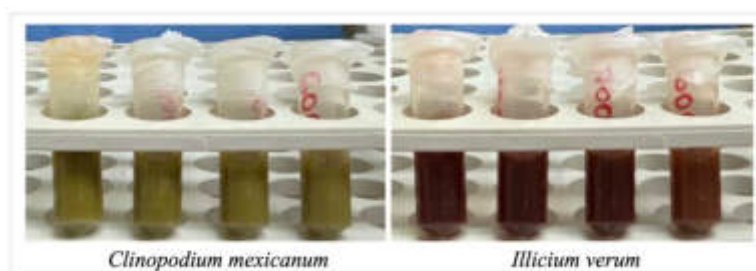
Figura 6. Preparación del inóculo.



5.3.5 Concentraciones de los extractos.

Se prepararon diferentes concentraciones de los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*. Inicialmente, se elaboró una solución madre disolviendo 100 mg de cada extracto en 1 ml de metanol. A partir de esta solución, se realizaron las siguientes diluciones utilizando caldo de tripticaseína de soja: para obtener la concentración de 80 mg/ml, se mezclaron 800 µl de la solución madre con 200 µl de caldo; para la concentración de 70 mg/ml, se combinaron 700 µl de la solución madre con 300 µl de caldo; y para la concentración de 60 mg/ml, se mezclaron 600 µl de la solución madre con 400 µl de caldo de tripticaseína de soja (Figura 7).

Figura 7. Concentraciones de los extractos metanólicos de *C. mexicanum* e *I. verum*.

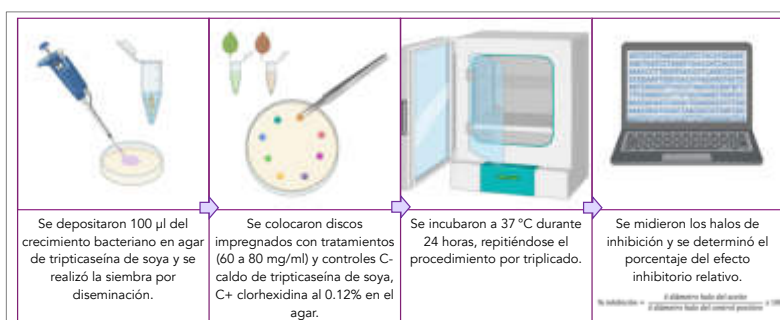


5.3.6 Actividad antibacteriana.

Se depositaron 100 µl del crecimiento bacteriano en cajas de agar de tripticaseína de soya, realizándose la siembra por diseminación para obtener un crecimiento confluyente, y se dejó secar durante 3 a 5 minutos. Una vez seco, se efectuó la difusión en disco mediante el método de Kirby-Bauer. A continuación, se colocaron discos de papel Whatman nº1 de 6 mm de diámetro impregnados con las concentraciones de los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* (60 a 80 mg/ml) en cada caja de agar. La inhibición del crecimiento bacteriano se comparó con los controles, empleando caldo de tripticaseína de soya como control negativo y clorhexidina al 0.12% como control positivo. Todas las cajas se incubaron a 37 °C durante 24 horas, repitiéndose el procedimiento por triplicado. Transcurrido el tiempo de incubación, se midieron los halos de inhibición de *S. mutans* y *S. sobrinus*, calculándose la media y la desviación estándar. Finalmente, se determinó el porcentaje del efecto inhibitorio relativo que se interpreta como una actividad antibacteriana alta cuando su porcentaje de inhibición relativo es >70%, intermedia entre el 50-70% y baja cuando es <50% (Figura 8), utilizando la siguiente fórmula (Delgado et al. 2020; Ramirez y Díaz, 2007; Cruz-Carrillo et al. 2010):

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\bar{x} \text{ diámetro halo del aceite}}{\bar{x} \text{ diámetro halo del control positivo}} \times 100$$

Figura 8. Proceso para la evaluación antimicrobiana mediante el método de Kirby-Bauer.



5.3.7 Actividad hemolítica.

La actividad hemolítica *in vitro* se evaluó mediante la técnica de inhibición de hemólisis, siguiendo los protocolos previamente descritos por Bomford (1980) y Yang et al. (2005). Primeramente, se aplicó un consentimiento informado a la persona voluntaria y sana conforme a lo establecido en la NOM-012-SSA3-2012 y la Declaración de Helsinki de la Organización Mundial de la Salud; después se obtuvo la sangre O+ de 30 ml, la cual se recolectó en tubos con anticoagulante (K2 EDTA) (BD Vacutainer®, Becton Dickinson & Company, Franklin Lakes, NJ, USA), la obtención de muestra se realizó mediante punción venosa por personal capacitado, utilizando material estéril y técnicas asépticas en apego a la NOM-253-SSA1-2012. Posteriormente, los glóbulos rojos aislados se lavaron tres veces con buffer salino de fosfatos (PBS, pH 7.0) y, posteriormente, se preparó una suspensión de eritrocitos al 5% en PBS estéril. Posteriormente, las concentraciones de los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* (60 a 80 mg/ml) se añadieron a tubos de ensayo de 2 ml junto con la suspensión de eritrocitos al 5%. Como controles se emplearon agua destilada, utilizada como control positivo de hemólisis, y PBS, utilizado como control negativo. Las muestras se incubaron durante 30 minutos a 37 °C en ausencia de luz y, posteriormente, se centrifugaron a 4 °C durante 5 minutos a 13,000 rpm. A continuación, se transfirieron 200 µl del sobrenadante de cada tubo a microplacas de 96 pozos de fondo plano, y se midió la densidad óptica de la hemoglobina liberada a 550 nm utilizando un lector de microplacas. Todo el procedimiento se realizó por triplicado (Figura 9). Se calculó el porcentaje de hemólisis para cada muestra mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Hemólisis} = \frac{(AbsTr) - (AbsC-)}{(AbsC+) - (AbsC-)} \times 100$$

Finalmente, para determinar diferencias estadísticas, se aplicó una prueba t para diferencia de medias en muestras independientes, considerando un valor de $p < 0.05$ y un intervalo de confianza del 95% (Figura 10) (Elizondo-Luévano et al. 2021; Elizondo-Luévano et al. 2022).

Figura 9. Microplaca con tratamientos y controles para evaluar la actividad hemolítica.

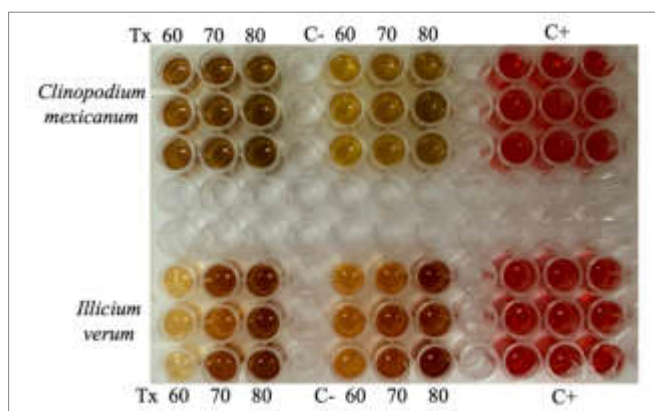
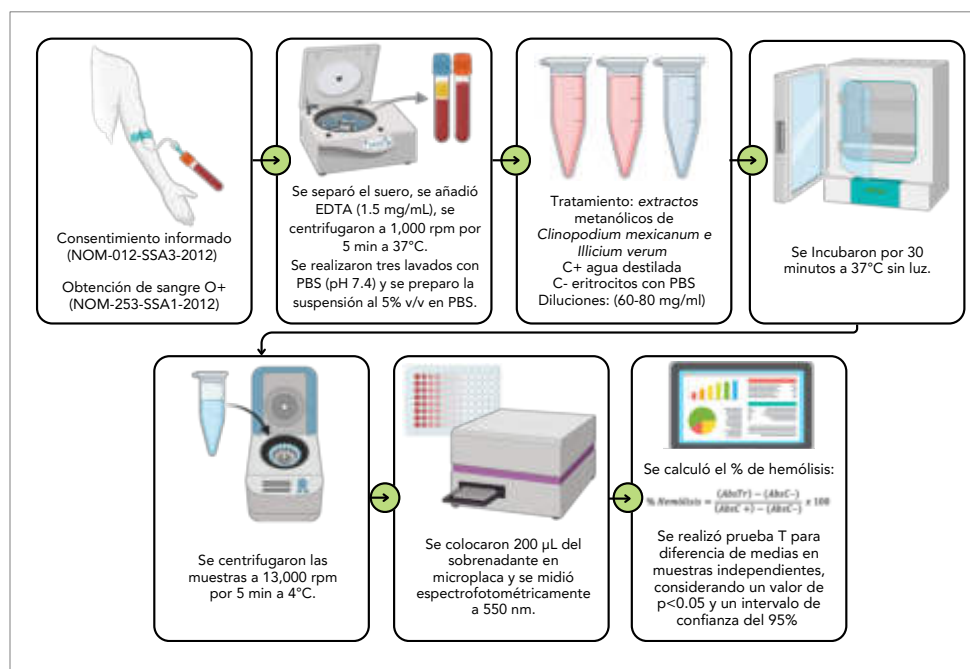


Figura 10. Proceso para evaluar la actividad hemolítica mediante la técnica de inhibición de hemólisis.



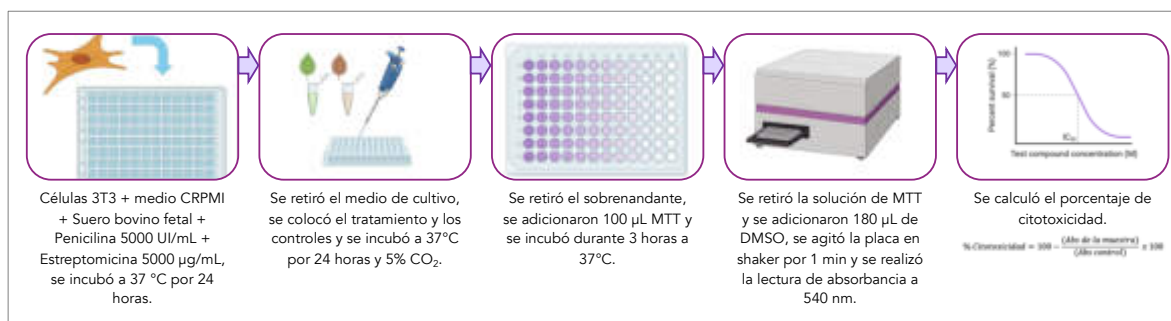
5.3.8 Citotoxicidad.

Para evaluar la citotoxicidad, se realizaron cultivos celulares en placas de 96 pocillos en presencia de concentraciones crecientes de los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* (0.1–4 $\mu\text{L/mL}$) sobre células 3T3 (5×10^{-4}). El volumen final de cada pocillo fue de 200 μL en medio de cultivo CRPMI 1640 (Gibco), pH 7, adicionado con 10% de suero bovino fetal (Gibco) previamente inactivado y adicionado con una solución de antibióticos: penicilina a 5,000 UL/mL y estreptomicina a 5,000 $\mu\text{g/mL}$ (Gibco), en una proporción de 5.5 ml por cada 500 ml de medio CRPMI. Se sembró una placa de 96 pocillos transparente utilizando 5×10^{-4} células por pocillo. La placa se incubó durante 24 horas a 37 °C, tras lo cual las células alcanzaron una confluencia del 70-80%. Se prepararon soluciones stock de los compuestos a ensayar utilizando DMSO como disolvente, a una concentración tal que este no superara el 0.5% en la placa. Posteriormente, se colocó medio de cultivo fresco en tubos Eppendorf estériles y se ajustaron las concentraciones de los extractos. Se retiró el medio de cultivo de la placa y se adicionó el compuesto ya disuelto en medio de cultivo fresco, manteniendo un volumen final de 200 μL por pocillo. La placa se incubó durante 24 horas a 37 °C en incubadora con 5% de CO_2 . Se incluyeron los siguientes controles: células con disolvente (DMSO) y MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol), células sin disolvente y con MTT, blanco de lectura (células con disolvente y sin MTT), así como células con el control positivo (clorhexidina al 0.12%). Tras el período de incubación, se observaron las células al microscopio y se evaluó su vitalidad y morfología. Se retiró el medio de cultivo y se preparó la solución de MTT (0.1 mg/ml) en medio de cultivo sin rojo fenol con 0.2% de glucosa (200 mg de MTT en RPMI. Se adicionaron 100 μL de esta solución en cada pocillo, mientras que en el blanco de lectura se colocaron 100 μL de RPMI sin rojo fenol y sin MTT. Posteriormente, las placas se incubaron durante 3 horas a 37

°C. Finalizado este procedimiento, se retiró la solución de MTT y se añadieron 180 µL de DMSO. La placa se agitó durante al menos un minuto, y después de 30 minutos se realizó la lectura de absorbancia a 540 nm. Finalmente, se calculó el porcentaje de citotoxicidad (Figura 11), con la siguiente fórmula (Delgado et al. 2020, Guillén-Meléndez et al. 2021):

$$\% \text{ Citotoxicidad} = 100 - \frac{(\text{Abs de la muestra})}{(\text{Abs control})} \times 100$$

Figura 11. Proceso del ensayo de citotoxicidad mediante el ensayo de MTT.



5.3.9 Efecto fagocítico y supervivencia intracelular.

Para evaluar la actividad microbicida, se utilizaron macrófagos murinos J774A.1 cultivados en DMEM alta glucosa suplementado con 10% de suero fetal bovino (37 °C, 5% CO₂). Con el fin de evitar interferencias con la infección, los antibióticos se retiraron al menos 24 h antes del ensayo. Las células se pre-estimularon durante 24 h con extractos de *Clinopodium mexicanum* y/o *Illicium verum* a 60 a 80 mg/ml (vehículo ≤ 0.1% v/v), se lavaron dos veces con PBS para eliminar extracto libre y se reemplazó el medio por DMEM sin antibióticos. Como controles, se incluyeron pozos con medio (control negativo). Las monocapas se infectaron con *Streptococcus mutans* o *S. sobrinus* (cultivados en BHI) a una relación aproximada bacteria:célula (MOI) de 10:1 y se incubaron 4 h a 37 °C para permitir la fagocitosis. A continuación, se retiró el sobrenadante, se lavó tres veces con PBS y se aplicó

el método de protección con gentamicina (100 µg/ml, 30 min) para eliminar bacterias extracelulares, posteriormente se lavó dos veces con PBS para eliminar restos de antibiótico y bacterias muertas. Posteriormente, para el índice de fagocitosis, las células se lisaron inmediatamente con 50 µl de Triton X-100 al 0.1% (5 min), se realizaron diluciones seriadas y se sembró en agar BHI; las colonias viables (CFU) se contaron tras 24 h de incubación (37 °C, 5% CO₂). Para el índice de supervivencia intracelular, después del paso inicial con gentamicina se añadió medio fresco con 10–20 µg/ml de gentamicina y los cultivos se mantuvieron 24 h adicionales post-infección; posteriormente se procedió a la lisis, siembra en placa y recuento de CFU como se describió anteriormente. El índice de fagocitosis se expresó como el porcentaje de bacterias intracelulares a 4 h respecto al inóculo, y la supervivencia intracelular como el porcentaje de bacterias a 24 h post-infección (Figura 12). Los experimentos se realizaron al menos en triplicado técnico por condición y en tres réplicas biológicas independientes; los datos se presentan como media ± DE. El análisis estadístico se efectuó mediante ANOVA de una o dos vías, según correspondiera (factor extracto y/o concentración), seguido de pruebas de comparaciones múltiples de Bonferroni y Tukey ($\alpha = 0.05$) (Figura 13). Las manipulaciones bacterianas se efectuaron en condiciones BSL-2 con equipo de protección personal adecuado (Bayer et al. 2021; González-Machorro et al. 2019).

Figura 12. Células de macrófagos J774A.1

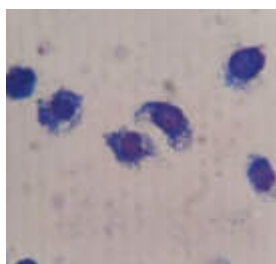
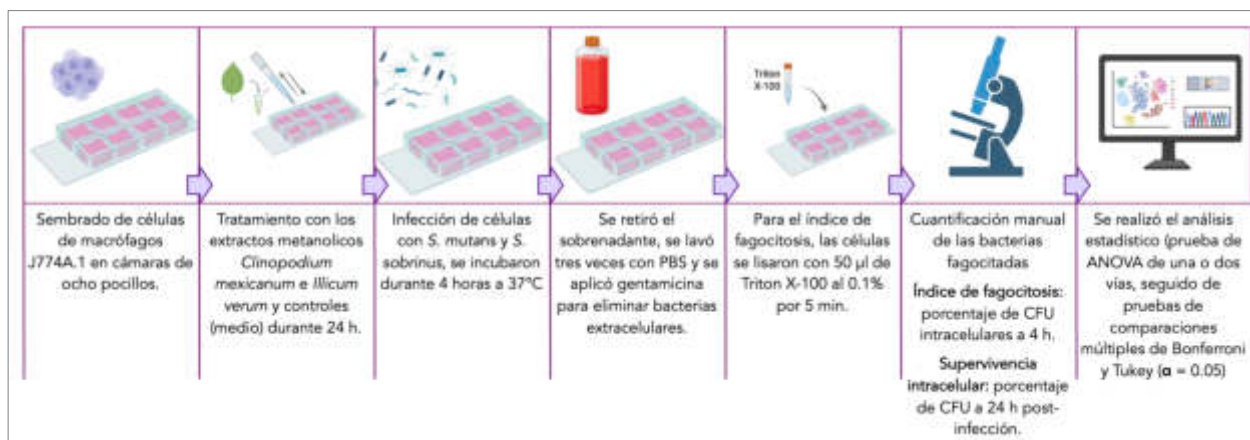


Figura 13. Proceso del ensayo de fagocitosis y supervivencia intracelular.



5.4 Consideraciones éticas.

Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (Apéndice 1).

- Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II, investigación con riesgo mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado (Apéndice 2).
- Título tercero. De la investigación de nuevos recursos profilácticos, de diagnóstico, terapéuticos y de rehabilitación. Capítulo I Artículos 61-64.
- Título tercero Capítulo II. De la investigación farmacológica, Artículos 65-71.
- Para minimizar riesgos, se realizaron pruebas de toxicidad *in vitro* antes de avanzar hacia cualquier experimento con humanos.
- Se promovió la transparencia en la publicación de los resultados, manteniendo así la integridad científica del estudio.

5.5 Validación de los resultados.

Se utilizó el programa estadístico de Excel.

- Estadística descriptiva: medidas de tendencia central (media, mediana, moda) y de dispersión (desviación estándar y varianza).
- Estadística inferencial: prueba t de diferencia de medias para muestras independientes considerando un valor $p < 0.05$ con 95% de confiabilidad y análisis de varianza (ANOVA) de una vía, se aplicó seguido de pruebas de comparaciones múltiples de Bonferroni y Tukey ($\alpha = 0.05$).

6. RESULTADOS

6.1 Rendimiento de los extractos.

Se identificó taxonómicamente el material vegetal como *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* (Apéndice 3). El extracto metanólico de *Clinopodium mexicanum* presentó un rendimiento de 17.27 g, correspondiente al 17.07% p/p. Por su parte, el extracto de *Illicium verum* mostró un rendimiento de 11.95 g, equivalente al 11.81% p/p (Figura 14).

Figura 14. Extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*.



6.2 Caracterización fitoquímica de los extractos.

En el extracto metanólico de *Clinopodium mexicanum* se evidenció la presencia, en orden de mayor a menor intensidad de reacción, de cumarinas, taninos, sesquiterpenlactonas, flavonoides, carbohidratos, quinonas, esteroides y triterpenos. Por su parte, el extracto metanólico de *Illicium verum* mostró la presencia, también en orden decreciente, de cumarinas, esteroides, triterpenos, sesquiterpenlactonas, quinonas, flavonoides, taninos, carbohidratos y alcaloides (Tabla 5).

Tabla 5. Pruebas químicas colorimétricas de los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*.

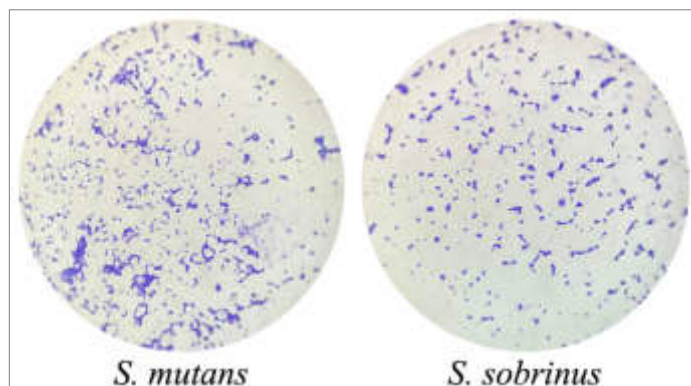
Pruebas químicas	<i>Clinopodium mexicanum</i>	<i>Illicium verum</i>
Libermann Burchard	+	++
Hidróxido de sodio al 10%	+++	+++
Baljet	++	++
Ácido sulfúrico	+	++
Prueba de la espuma	-	-
Shinoda	++	+
Cloruro férrico	+++	+
Antrona	++	+
Dragendorff	-	+

Resultado ligeramente positivo (+), moderadamente positivo (++), altamente positivo (+++), o negativo (-) (Dubale et al. 2023).

6.3 Identificación de bacterias.

A la observación microscópica, *Streptococcus mutans* se identificó como cocos Gram positivos teñidos de color violeta intenso, los microorganismos presentaron morfología esférica uniforme, tamaño pequeño y agrupados en cadenas cortas característico del género *Streptococcus*. De manera similar, *Streptococcus sobrinus* mostró cocos Gram positivos con afinidad por el cristal violeta, observándose también en disposición en cadenas cortas o medianas (Figura 15).

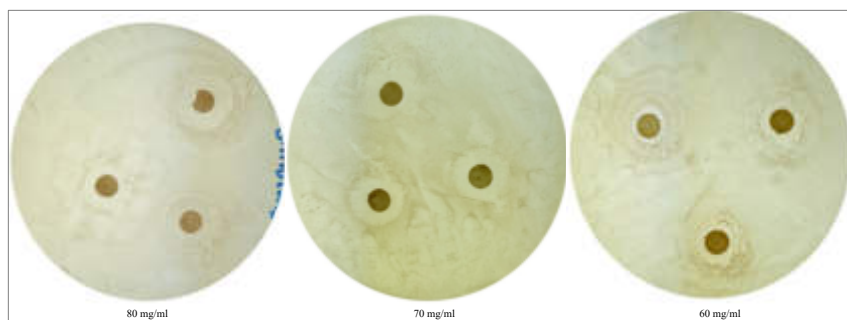
Figura 15. Visualización microscópica de *S. mutans* y *S. sobrinus* mediante tinción de cristal violeta (100x).



6.4 Actividad antibacteriana.

El extracto metanólico de *Illicium verum* presentó actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*, evidenciada por la formación de halos de inhibición. A una concentración de 80 mg/ml, se obtuvo un halo de inhibición promedio de 10.2 mm (Figura 16). Este resultado fue comparable al observado con el control positivo, clorhexidina al 0.2%, que mostró un halo de inhibición de 10.3 mm (Figura 18), lo que sugiere una actividad antimicrobiana similar bajo las condiciones experimentales evaluadas.

Figura 16. Formación de halos de inhibición del extracto de *Illicium verum* contra *S. mutans*.



Por otro lado, el extracto de *Illicium verum* mostró un efecto inhibitorio dependiente de la concentración, observándose un incremento progresivo en la actividad antimicrobiana conforme aumentaron las concentraciones evaluadas. El porcentaje de inhibición relativo fue considerado alto en las concentraciones de 80 mg/ml (98.7%), 70 mg/ml (94.2%) y 60 mg/ml (90.6%) (Tabla 6), de acuerdo con los criterios de clasificación reportados por Delgado et al. (2020) y Cruz-Carrillo et al. (2010).

Tabla 6. Actividad antibacteriana del extracto *Illicium verum* contra *S. mutans*.

Tratamientos	R1	R2	R3	$\bar{x}$	s	%
80 mg/ml	10.2	10	10.3	10.2	0.2	98.7
70 mg/ml	10.1	9	10	9.7	0.6	94.2
60 mg/ml	10	9	9	9.3	0.6	90.6
C+	10.3	10.3	10.3	10.3	0	-
C-	0	0	0	0	0	-

Media de la muestra ($\bar{x}$); desviación estándar de la muestra (s); porcentaje del efecto inhibitorio relativo (%); Clorhexidina 0.2% (C+); Medio (C-).

De igual manera, el extracto metanólico de *Illicium verum* evidenció actividad antibacteriana contra *Streptococcus sobrinus*, manifestada mediante la presencia de halos de inhibición. En la concentración de 80 mg/ml se registró un halo promedio de 10.5 mm (Figura 17), valor ligeramente superior al del control positivo (clorhexidina al 0.2%), que presentó un halo de 10.2 mm (Figura 18). Estos hallazgos indican que, bajo las condiciones experimentales establecidas, el extracto mostró una eficacia antimicrobiana comparable a la del agente de referencia.

Figura 17. Formación de halos de inhibición del extracto de *I. verum* contra *S. sobrinus*.



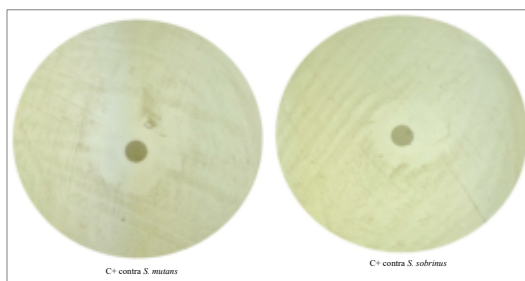
Asimismo, se observó un comportamiento dosis-dependiente, ya que la magnitud del efecto inhibitorio aumentó conforme se incrementó la concentración del extracto. El porcentaje de inhibición relativo se clasificó como alto en las concentraciones de 80 mg/ml (102.5%), 70 mg/ml (99%) y 60 mg/ml (98.5%) (Tabla 7), según los criterios establecidos por Delgado et al. (2020) y Cruz-Carrillo et al. (2010).

Tabla 7. Actividad antibacteriana del extracto *Illicium verum* contra *S. sobrinus*.

Tratamientos	R1	R2	R3	$\bar{x}$	s	%
80 mg/ml	10.2	10.7	10.7	10.5	0.3	102.5
70 mg/ml	10.1	10.1	10.2	10.1	0.1	99.0
60 mg/ml	10	10.1	8	10.1	1.2	98.5
C+	10.2	10.2	10.2	10.2	0	-
C-	0	0	0	0.0	0	-

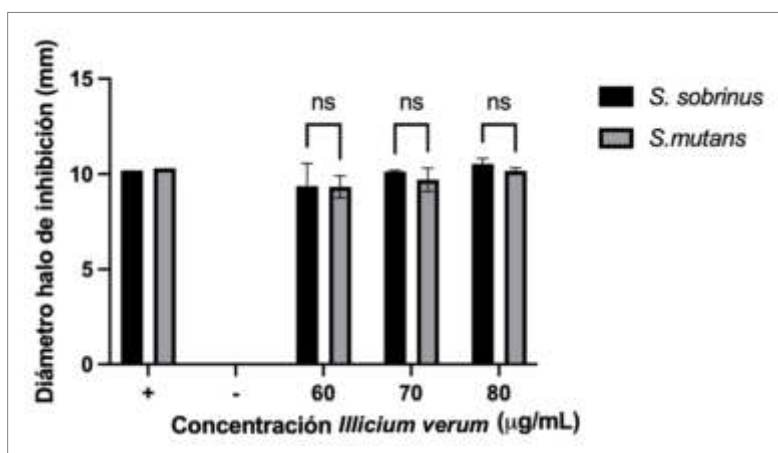
Media de la muestra ($\bar{x}$); desviación estándar de la muestra (s); porcentaje del efecto inhibitorio relativo (%); Clorhexidina 0.2% (C+); Medio (C-).

Figura 18. Formación de halos de inhibición del control positivo (clorhexidina al 0.2%) contra *S. mutans* y *S. sobrinus*.



En base a todo lo anterior, la Figura 19 muestra el efecto del extracto de *Illicium verum* sobre la inhibición bacteriana de *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus mutans*, evaluado mediante la medición del diámetro del halo de inhibición (mm) a diferentes concentraciones (60, 70 y 80 µg/ml), en comparación con los controles. En el grupo control positivo (+), ambos microorganismos presentaron halos de inhibición cercanos a los 10 mm, confirmando la actividad antimicrobiana esperada del agente de referencia. Por su parte, el control negativo (-) no mostró inhibición, validando la ausencia de actividad antimicrobiana. En cuanto a los grupos experimentales, las concentraciones de 60, 70 y 80 µg/ml de *Illicium verum* mostraron halos de inhibición con valores promedio similares a los observados en el control positivo para ambas cepas bacterianas. Sin embargo, el análisis estadístico indicó que no existen diferencias significativas entre los grupos tratados y el control. Por lo que, estos resultados indican que, bajo las condiciones experimentales evaluadas, el extracto de *Illicium verum* no presenta un efecto inhibitorio significativamente diferente al control, manteniendo una actividad antimicrobiana constante, pero sin evidenciar un efecto dosis-dependiente en el rango de concentraciones analizado.

Figura 19. Actividad antimicrobiana de *Illicium verum* sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*.



ns: sin diferencia significativa vs. el control positivo (+): $p > 0.05$.

Respecto al extracto metanólico de *Clinopodium mexicanum*, este fue evaluado en concentraciones comprendidas entre 60 a 80 mg/ml; sin embargo, no se observó formación de halos de inhibición frente a *Streptococcus mutans* ni *Streptococcus sobrinus* bajo las condiciones experimentales establecidas, lo que indica ausencia de actividad antibacteriana en el rango de concentraciones analizado.

6.5 Actividad hemolítica.

El extracto de *Clinopodium mexicanum* presentó un 13.3% de hemólisis en la concentración más baja evaluada (60 mg/ml), mientras que *Illicium verum* mostró un 11.6% de hemólisis a 80 mg/ml (Tabla 8). De acuerdo con los criterios establecidos por Amin y Dannenfelser (2006), los valores de hemólisis inferiores al 10% se consideran no hemolíticos, mientras que aquellos superiores al 25% se clasifican como hemolíticos. Asimismo, Alonso-Geli et al. (2015) señalan que el 10% de hemólisis representa el valor máximo permisible dentro de los límites normales de resistencia globular mínima. En este contexto, dado que ambos extractos

superaron el 10% de hemólisis, pueden considerarse con actividad hemolítica bajo las condiciones experimentales evaluadas.

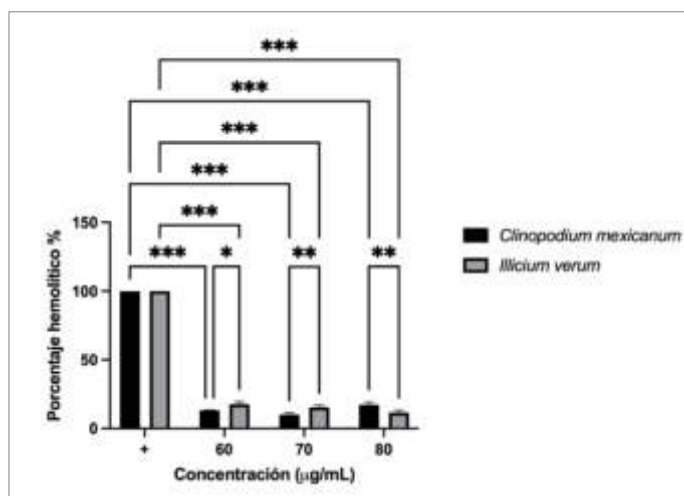
Tabla 8. Actividad hemolítica de los extractos *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*.

Tratamientos	<i>Clinopodium mexicanum</i>			<i>Illicium verum</i>		
	$\bar{x}$	s	s ²	$\bar{x}$	s	s ²
80 mg/ml	17.4	1.9	3.7	11.6	1.9	3.5
70 mg/ml	10.1	1.4	2.1	15.4	1.5	2.3
60 mg/ml	13.3	0.1	0.0	17.7	1.9	3.5
C+	100	0	0	100	0	0
C-	0	0	0	0	0	0

Media de la muestra ($\bar{x}$); desviación estándar de la muestra (s); varianza (s²).

La Figura 20 presenta la evaluación de la toxicidad de los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* sobre eritrocitos humanos, medida como porcentaje de hemólisis a concentraciones de 60, 70 y 80 µg/ml, en comparación con el control positivo (+). En el caso de *Clinopodium mexicanum*, se observaron niveles bajos de hemólisis, presentando diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control positivo (***p < 0.001). De manera similar, *Illicium verum* mostró un perfil de toxicidad reducido con porcentajes de hemólisis también bajos. El análisis estadístico reveló que ambas sustancias presentan diferencias significativas frente al control en todas las concentraciones evaluadas, con niveles de significancia que oscilan entre *p < 0.05, **p < 0.01 y ***p < 0.001, dependiendo de la concentración y el extracto. Ambos extractos presentan un comportamiento similar en cuanto a su baja actividad hemolítica, lo que sugiere una adecuada biocompatibilidad a las concentraciones evaluadas.

Figura 20. Evaluación de la toxicidad hemolítica de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* en eritrocitos humanos.



Diferencias significativas vs. el control positivo (+): *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

Asimismo, la Tabla 9 muestra la comparación de las absorbancias obtenidas entre las diferentes concentraciones de los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* y el control positivo (C+), utilizado como referencia de hemólisis máxima. En ambos extractos, las medias de absorbancia registradas en los tratamientos fueron considerablemente menores que las observadas en el control positivo en todas las concentraciones evaluadas (60, 70 y 80 mg/ml). Asimismo, el análisis mediante prueba t evidenció diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) entre los tratamientos y el control positivo. Estos resultados indican que, aunque los extractos presentaron actividad hemolítica, el grado de hemólisis inducido fue significativamente inferior al generado por el control positivo, lo que sugiere una actividad hemolítica baja o moderada y una posible compatibilidad biológica en las concentraciones analizadas.

Tabla 9. Absorbancias de los extractos *C. mexicanum* e *I. verum* y control positivo.

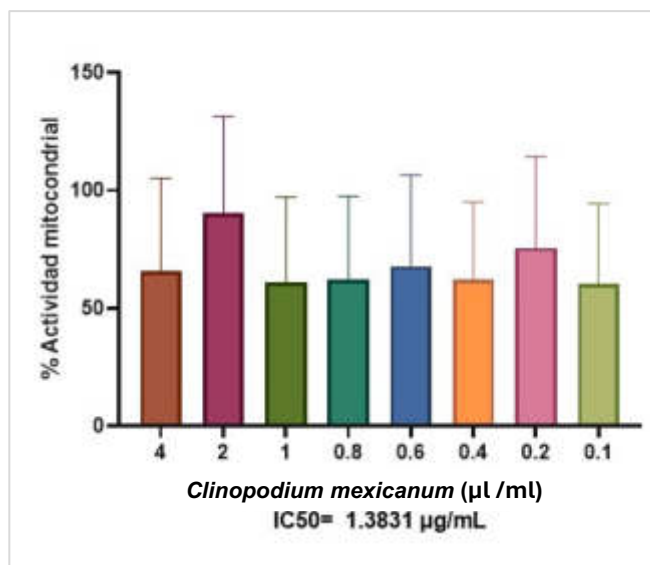
Concentraciones	<i>Clinopodium mexicanum</i>			<i>Illicium verum</i>		
	Media	Media	Prueba t	Media	Media	Prueba t
	Tx	C+	(Valor <i>p</i>)	Tx	C+	(Valor <i>p</i>)
80 mg/ml	0.635	1.954	1.27627E-06	0.881	1.907	5.78021E-07
70 mg/ml	0.506	2.053	1.96819E-07	0.765	1.939	7.57831E-07
60 mg/ml	0.468	2.048	2.57178E-08	0.631	1.971	2.06358E-07

6.6 Índice de citotoxicidad.

En la Figura 21, se presenta el porcentaje de actividad mitocondrial de células 3T3 expuestas a diferentes concentraciones de *Clinopodium mexicanum* (0.1–4 µl/ml). Los resultados muestran que la viabilidad celular se mantuvo por encima del 50% en todas las concentraciones evaluadas. La mayor actividad mitocondrial se observó a la concentración de 2 µl/ml, con valores cercanos al 90%, mientras que en el resto de las concentraciones los valores oscilaron aproximadamente entre 58% y 75%. No se identificó una relación dosis–respuesta claramente dependiente dentro del intervalo de concentraciones analizado.

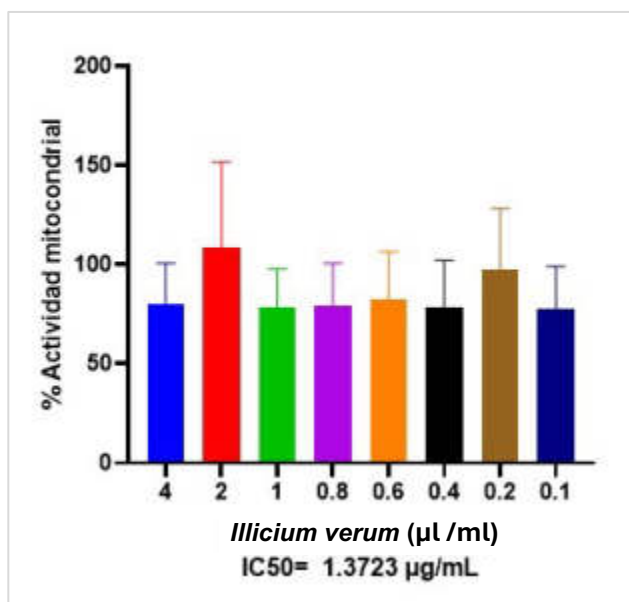
El valor de IC₅₀ estimado fue de 1.3831 µg/ml, lo que corresponde a la concentración necesaria para reducir la actividad mitocondrial al 50%. En conjunto, estos hallazgos sugieren que *Clinopodium mexicanum* presenta baja a moderada citotoxicidad sobre la línea celular 3T3 en las condiciones experimentales evaluadas.

Figura 21. Porcentaje de citotoxicidad en células 3T3 por efecto de *Clinopodium mexicanum*.



En la Figura 22, se muestra el porcentaje de actividad mitocondrial de células 3T3 tratadas con diferentes concentraciones de *Illicium verum* (0.1–4 µl/ml). Los resultados indican que la viabilidad celular se mantuvo por encima del 70% en todas las concentraciones evaluadas. La mayor actividad mitocondrial se registró a la concentración de 2 µl/ml, con valores cercanos al 110%, lo que sugiere ausencia de citotoxicidad e incluso posible estimulación metabólica a esta dosis. En las demás concentraciones, la actividad mitocondrial se mantuvo aproximadamente entre 75% y 98%, sin observarse una tendencia dosis–respuesta claramente definida. El valor de IC₅₀ estimado fue de 1.3723 µg/ml. En conjunto, estos resultados sugieren que *Illicium verum* presenta baja citotoxicidad sobre la línea celular 3T3 bajo las condiciones experimentales evaluadas.

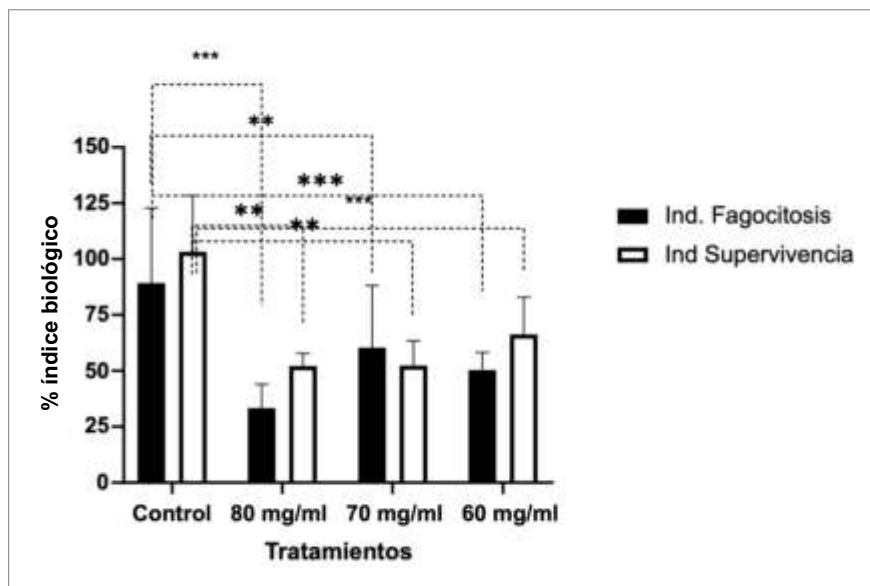
Figura 22. Porcentaje de citotoxicidad en células 3T3 por efecto de *Illicium verum*.



6.7 Efecto fagocítico y supervivencia intracelular.

Los macrófagos preestimulados con el extracto de *Clinopodium mexicanum* en concentraciones de 60, 70 y 80 mg/ml fueron desafiados con *Streptococcus mutans*. Se evaluaron el índice de fagocitosis, expresado como el porcentaje de bacterias internalizadas, y el índice de supervivencia intracelular, correspondiente al porcentaje de bacterias viables 24 horas posteriores a la ingestión. Los resultados se presentan como media $\pm$ desviación estándar (DE). El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$, donde los asteriscos indican diferencias significativas respecto al control (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) (Figura 23).

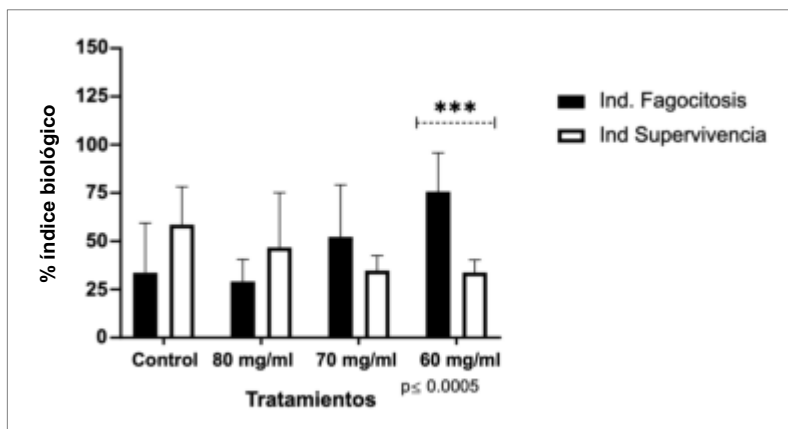
Figura 23. Efecto microbicida *in vitro* de macrófagos tratados con *C. mexicanum* frente a *S. mutans*.



Prueba de Bonferroni ($\alpha = 0.05$); diferencias significativas vs. el control: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

De manera similar, los macrófagos preestimulados con *Clinopodium mexicanum* en el mismo rango de concentraciones fueron desafiados con *Streptococcus sobrinus* a una multiplicidad de infección (MOI) de 10:1. Se determinaron tanto el índice de fagocitosis como el de supervivencia intracelular 24 horas después de la ingestión bacteriana. Los datos, expresados como media $\pm$ DE ($n \geq 3$), fueron analizados mediante ANOVA seguido de la prueba post-hoc de Bonferroni ($\alpha = 0.05$), observándose diferencias altamente significativas (*** $p \leq 0.0005$) (Figura 24).

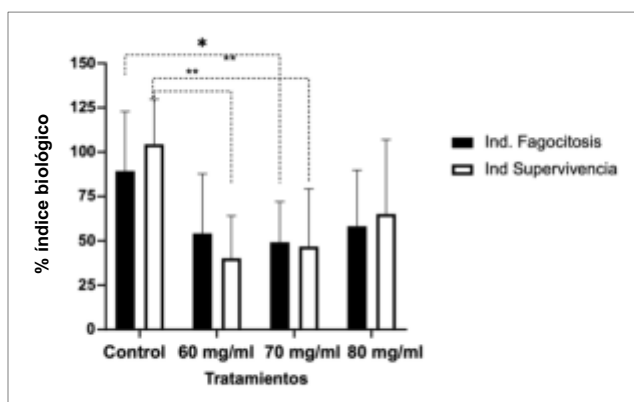
Figura 24. Efecto microbicida *in vitro* de macrófagos tratados con *C. mexicanum* frente a *S. sobrinus*.



Prueba de Bonferroni ($\alpha = 0.05$); diferencias significativas vs. el control: *** $p < 0.001$.

En el caso del extracto de *Illicium verum*, los macrófagos pretestimulados (60, 70 y 80 mg/ml) y desafiados con *Streptococcus mutans* mostraron valores de fagocitosis y supervivencia intracelular evaluados bajo las mismas condiciones experimentales. Los resultados (media $\pm$ DE, $n \geq 3$) se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post-hoc de Bonferroni considerando significativas las diferencias con valores de * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$ (Figura 25).

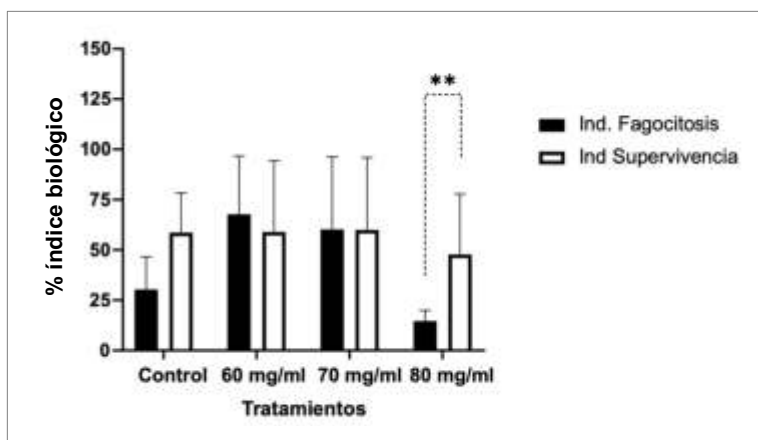
Figura 25. Efecto microbicida *in vitro* de macrófagos tratados con *Illicium verum* frente a *S. mutans*.



Prueba de Bonferroni ($\alpha = 0.05$); diferencias significativas vs. el control: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Asimismo, los macrófagos tratados con *Illicium verum* y desafiados con *Streptococcus sobrinus* permitieron cuantificar el índice de fagocitosis (representado por barras negras) y el índice de supervivencia intracelular (barras blancas). Los datos fueron expresados como media $\pm$ DE ($n \geq 3$) y analizados mediante ANOVA con corrección de Sidak ($\alpha = 0.05$), encontrándose diferencias significativas (** $p < 0.01$) (Figura 26).

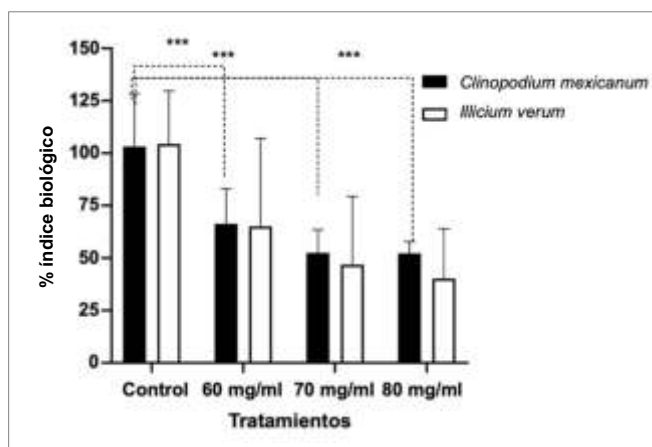
Figura 26. Efecto microbicida *in vitro* de macrófagos tratados con *Illicium verum* frente a *S. sobrinus*.



Prueba de ANOVA con corrección de Sidak ($\alpha = 0.05$): ** $p < 0.01$.

Por otro lado, al comparar el efecto de ambos extractos (*Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*) sobre la supervivencia intracelular de *Streptococcus mutans*, se observó que los macrófagos pretratados con concentraciones de 60, 70 y 80 mg/ml presentaron diferencias significativas en el porcentaje de bacterias viables tras la fagocitosis. Los resultados (media $\pm$ DE, $n \geq 3$) fueron analizados mediante ANOVA de dos vías (extracto $\times$ concentración) con prueba de Tukey, evidenciando diferencias altamente significativas respecto al control (** $p < 0.001$) (Figura 27).

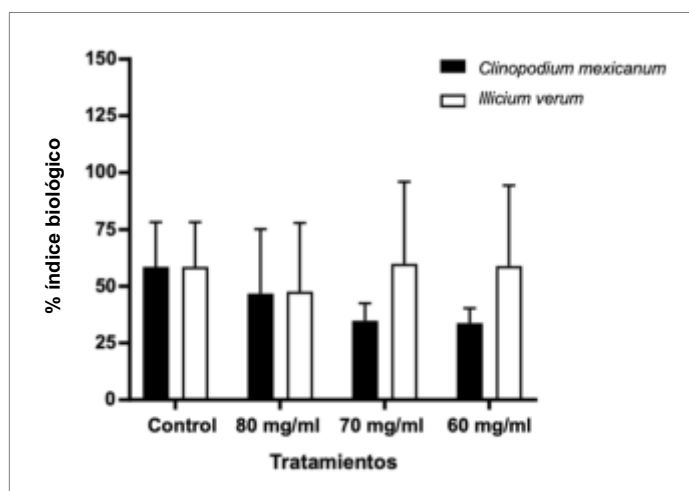
Figura 27. Índice de supervivencia intracelular de *S. mutans* en macrófagos estimulados con *Clinopodium mexicanum* vs *Illicium verum*.



ANOVA de dos vías (extracto $\times$ concentración) con Tukey; *** $p < 0.001$ vs. control.

Finalmente, en la evaluación de la supervivencia intracelular de *Streptococcus sobrinus* bajo las mismas condiciones experimentales, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con ambos extractos en comparación con el control. Los datos se expresaron como media $\pm$ DE ($n \geq 3$) y se analizaron mediante ANOVA con corrección de Sidak ($\alpha = 0.05$) (Figura 28).

Figura 28. Índice de supervivencia intracelular de *S. sobrinus* en macrófagos estimulados con *Clinopodium mexicanum* vs *Illicium verum*.



7. DISCUSIÓN

El presente estudio investigó la actividad antibacteriana, hemolítica, citotóxica y fagocítica *in vitro* de los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*. Los resultados obtenidos revelan una correlación significativa entre la composición química de los extractos y sus diversos efectos potenciales.

En cuanto al porcentaje obtenido del extracto de *Clinopodium mexicanum*, este resultado es consistente con investigaciones anteriores, como la de Estrada-Reyes et al. (2010), quienes utilizaron la misma planta y técnica de obtención, pero diferentes solventes, reportando rendimientos de 3.65 g, 3.65% p/p para el extracto de hexano y 8.5 g, 8.5% p/p para el extracto de acetato de etilo. Por otro lado, el rendimiento obtenido para el extracto de *Illicium verum* puede considerarse moderado, ya que un estudio evaluó la extracción por maceración con diferentes solventes y reportó que el extracto metanólico de *Illicium verum* alcanzó un rendimiento de 29.66%, siendo el más alto en comparación con agua (19.18%) y n-hexano (11.54%), lo que confirma la influencia de la polaridad del solvente en la eficiencia de extracción (Idris et al. 2024). De manera complementaria, un estudio reportó que la obtención de polisacáridos de *Illicium verum* mediante técnicas específicas alcanza rendimientos cercanos al 5.14% (Alias y Shafie, 2024). Asimismo, la literatura indica que el metanol, debido a su alta polaridad, favorece la extracción de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos, los cuales están estrechamente relacionados con ambas plantas (Idris et al. 2024). En este sentido, se sugiere que variables como el tiempo de extracción, la temperatura, la relación sólido/solvente y las características del material vegetal influyen de manera significativa en la cantidad de los extractos recuperados.

En el caso de *Clinopodium mexicanum*, se evidenció la presencia significativa de compuestos bioactivos, entre ellos cumarinas, taninos, quinonas, flavonoides y antronas. Estrada-Reyes et al. (2010) identificaron en el extracto acuoso de *Clinopodium mexicanum* mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas con ionización por electrospray como principales metabolitos flavanonas glicosiladas, entre ellas la neoponcirina, poncirina e isonaringina. Pérez-Ochoa et al. (2024) reportaron que sus extractos hidrometanólicos e hidroetanólicos de *Clinopodium mexicanum* presentaron actividad antioxidante evaluada mediante los ensayos de capacidad de captura del radical ABTS y de poder reductor férrico, sugiriendo la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides en la especie, ya que este tipo de metabolitos secundarios se asocia comúnmente con la capacidad antioxidante. De igual manera, se ha reportado que en el género *Clinopodium* se han identificado más de ciento treinta metabolitos secundarios, entre ellos flavonoides, saponinas triterpenoides, glucósidos diterpenoides, lignanos y fenilpropanoides, sin embargo, la presencia de flavonoides y otros compuestos fenólicos observada en el presente estudio refuerza el potencial antioxidante y antiinflamatorio atribuido a especies de este género (Li et al. 2025). Respecto a *Illicium verum*, el perfil fitoquímico del presente estudio se caracterizó por la presencia de cumarinas, esteroides, triterpenos y sesquiterpenlactonas. No obstante, Zhu et al. (2024) señalan que esta especie posee un perfil fitoquímico más amplio y complejo, dominado por metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, ya que, mediante análisis por espectrometría de masas acoplada a desorción térmica y cromatografía de gases, dichos autores identificaron que los fenilpropanoides particularmente el anetol constituyen el componente mayoritario del aceite esencial, junto con flavonoides, lignanos, terpenoides y otros compuestos fenólicos. De manera consistente, otros estudios han confirmado la amplia diversidad de metabolitos

secundarios en *I. verum*, incluyendo fenilpropanoides, flavonoides, lignanos, taninos y sesquiterpenos, lo que respalda la complejidad química observada en la presente investigación (Yang et al. 2021). Asimismo, se ha demostrado que la maceración con solventes de distinta polaridad influye de forma importante en el perfil fitoquímico obtenido; particularmente, el extracto metanólico tiende a concentrar mayores niveles de compuestos fenólicos, taninos y flavonoides, lo que subraya la relevancia del solvente en la recuperación de metabolitos activos (Idris et al. 2024). En conjunto, estos antecedentes respaldan los resultados de la caracterización fitoquímica cualitativa, evidenciando que tanto el extracto metanólico de *Clinopodium mexicanum* como el de *Illicium verum* presentan una importante diversidad de metabolitos secundarios, con predominio de cumarinas, compuestos terpénicos y flavonoides.

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el extracto metanólico de *Illicium verum* posee actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, microorganismos estrechamente asociados al desarrollo de la caries dental. Estos hallazgos son congruentes con la evidencia reciente sobre los compuestos bioactivos derivados de *I. verum*, Zhang et al. (2022b) reportaron que el ácido shikímico, un metabolito abundante de *I. verum*, posee la capacidad de inhibir la formación de biopelícula de *S. mutans*, este efecto se atribuye a la reducción en la síntesis de exopolisacáridos, la modulación de la transcripción de genes relacionados con la formación de biofilm y la interacción con la membrana celular bacteriana y sus proteínas, lo que provoca daño estructural, dichos efectos fueron observados en modelos de esmalte dental bovino. Por otra parte, Atisakul y Saewan (2023) señalaron que el aceite esencial de *Illicium verum* obtenido mediante hidrodestilación no logró erradicar completamente a *S. mutans*, lo

que sugiere que la eficacia antimicrobiana puede depender del tipo de extracto, la concentración empleada y la posible sinergia entre metabolitos. De forma complementaria, Elchaghaby et al. (2024) informaron que las nanopartículas de plata biosintetizadas con anís estrella exhibieron alta actividad antioxidante y una notable inhibición de *S. mutans*, con un halo de 16 mm y una concentración inhibitoria mínima de 80 µg/ml. En concordancia con lo anterior, Atazhanova et al. (2024) describen que *Illicium verum* pueden inhibir el crecimiento y la formación de biopelícula de *Streptococcus mutans*. Por otro lado, la evidencia publicada sobre *Illicium verum* se ha enfocado principalmente en *S. mutans*, observándose una limitada exploración frente a *S. sobrinus*, en consecuencia, los resultados del presente estudio adquieren relevancia al proporcionar datos experimentales sobre esta especie, considerada también un patógeno cariogénico importante. En base a lo anterior, la evidencia sugiere que el extracto metanólico de *Illicium verum* representa una alternativa prometedora como agente antimicrobiano frente a bacterias cariogénicas. En contraste, el extracto metanólico de *Clinopodium mexicanum* no mostró actividad antibacteriana frente a *S. mutans* ni *S. sobrinus* en el rango de 60 a 80 mg/ml, este hallazgo podría explicarse por diversos factores. Botello-Ojeda et al. (2024) evaluaron la actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium mexicanum* obtenido mediante hidrodestilación, utilizando NaCl, CaCl₂ y Tween 20 como aditivos, en donde los autores observaron que dichos aditivos influyeron significativamente en la actividad antioxidante del aceite esencial. En conjunto, estos antecedentes indican que la bioactividad de *C. mexicanum* depende en gran medida del tipo de extracto y de las condiciones de obtención, por lo tanto, la ausencia de actividad antibacteriana observada en el presente estudio podría estar relacionada con el uso del extracto metanólico y con la posible baja concentración de metabolitos con efecto antimicrobiano en las condiciones evaluadas.

En el presente estudio, los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* mostraron porcentajes de hemólisis superiores al 10% en las concentraciones evaluadas, lo que, de acuerdo con los criterios de Amin y Dannenfelser (2006) y Alonso-Geli et al. (2015), sugiere la presencia de actividad hemolítica bajo las condiciones experimentales. Estos resultados indican que, aunque la hemólisis observada no alcanza el umbral de alta hemotoxicidad (>25%), sí rebasa el límite considerado seguro para eritrocitos. Se ha descrito que el aceite esencial de *Clinopodium mexicanum* contiene compuestos como pulegona y mentona, metabolitos que podrían contribuir a efectos citotóxicos dependiendo de la dosis (Botello-Ojeda et al. 2024) y respecto a *Illicium verum*, la evidencia sobre hemólisis eritrocitaria también es escasa; la mayoría de los estudios se han enfocado en sus propiedades antioxidantes, antivirales o antidiabéticas (Amtaghri et al. 2023). Estudios como el de Yang et al. (2005) han demostrado que la hemólisis inducida por extractos vegetales suele ser dependiente de la concentración, observándose incrementos progresivos conforme aumenta la dosis, por lo que, estos resultados sugieren que ambos extractos presentan actividad hemolítica leve, por encima del límite fisiológico aceptable, pero por debajo de niveles considerados altamente hemotóxicos.

Los resultados indican que ambos extractos presentan baja a moderada citotoxicidad en la línea celular 3T3; *Clinopodium mexicanum* mantuvo viabilidad >50%, mientras que *Illicium verum* mostró menor citotoxicidad con viabilidad >70% en todas las concentraciones evaluadas. Este comportamiento es consistente con estudios recientes en células fibroblásticas, donde diversos extractos de origen natural han mostrado perfiles de baja toxicidad y, en algunos casos, efectos citoprotectores o proliferativos en células normales, lo que sugiere un potencial uso seguro en aplicaciones biomédicas (Farràs et al. 2021). Estudios

recientes han demostrado que ciertos extractos vegetales pueden favorecer la proliferación celular o reducir el estrés oxidativo en fibroblastos 3T3, promoviendo la viabilidad celular incluso en condiciones adversas (Santoso et al. 2025). Así mismo, investigaciones recientes han demostrado que extractos vegetales ricos en compuestos fenólicos y aceites esenciales pueden mantener una alta viabilidad en fibroblastos, lo que sugiere un adecuado perfil de biocompatibilidad para aplicaciones biomédicas (Farràs et al. 2021; Borges et al. 2022). Adicionalmente, estudios sobre *Illicium verum* han reportado que esta especie contiene compuestos bioactivos como anetol, flavonoides y otros fenilpropanoides con propiedades antioxidantes, los cuales pueden contribuir a la protección celular y a la estabilidad de la función mitocondrial (Wang et al. 2011). Por lo que, de acuerdo con otros estudios, la interpretación de los valores de IC₅₀ en células normales como fibroblastos 3T3 es fundamental para determinar la biocompatibilidad de compuestos naturales, considerándose deseable que estos no reduzcan significativamente la viabilidad celular en concentraciones bajas (Riss et al. 2022). En este contexto, los resultados sugieren que *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* presentan un perfil biológico favorable, con baja citotoxicidad y posible efecto citoprotector, lo que respalda su potencial como fuentes seguras de compuestos bioactivos.

Los resultados del presente estudio evidencian que los extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* ejercen un efecto modulador sobre la fagocitosis y la supervivencia intracelular de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* en macrófagos, lo cual sugiere una interacción relevante entre los metabolitos vegetales y la respuesta inmune innata. Este comportamiento dependiente de la especie bacteriana, del extracto y de la concentración coincide con la naturaleza multifactorial de los compuestos

fitoquímicos presentes en ambas plantas. En el caso de *Clinopodium mexicanum*, la modulación observada podría explicarse por su riqueza en flavonoides y otros polifenoles. Estudios recientes han confirmado que los extractos de esta especie contienen flavanonas glicosiladas, ácido rosmarínico y otros compuestos fenólicos con propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (García-Marín et al. 2026). Estos metabolitos son conocidos por influir en la función de macrófagos, ya que los flavonoides pueden inhibir la producción de mediadores proinflamatorios y modular vías como NF- κ B y MAPK en células inmunes (Son et al. 2020; Zaragoza et al. 2020). En este contexto, la alteración del índice de fagocitosis observada frente a *S. mutans* y *S. sobrinus* podría reflejar un efecto inmunomodulador más que un efecto bactericida directo. Por otra parte, el extracto de *Illicium verum* también produjo cambios significativos en la fagocitosis y en la supervivencia intracelular bacteriana. Este hallazgo es consistente con reportes recientes que describen la capacidad de formulaciones basadas en *Illicium verum* para mejorar la respuesta inmune en modelos animales inmunosuprimidos, evidenciando un efecto inmunoestimulador del extracto (Milad et al. 2025). Estudios fitoquímicos recientes describen que los extractos de *Illicium verum* contienen fenoles, flavonoides y terpenoides con actividades antioxidantes y antiinflamatorias que participan en la regulación de respuestas inmunes y de citocinas (Ling et al. 2024). El análisis comparativo entre extractos frente a *S. mutans* mostró diferencias significativas en la viabilidad intracelular, lo que sugiere que los metabolitos presentes en cada planta podrían afectar de manera diferencial los mecanismos de internalización y/o la capacidad microbicida del macrófago. Este fenómeno ha sido descrito para diversos polifenoles vegetales, los cuales pueden favorecer tanto la activación como la regulación de la respuesta microbicida dependiendo de la concentración y del contexto celular (Vieira et al. 2025). Sin embargo, es relevante que frente a *S. sobrinus* no se observaran diferencias

significativas en la supervivencia intracelular al comparar ambos extractos. Esto podría indicar que esta especie bacteriana posee mecanismos de resistencia intracelular más eficientes o que la modulación inducida por los extractos no alcanza a afectar los procesos de eliminación bacteriana en este modelo. Diferencias en la capacidad de evasión intracelular entre especies de estreptococos han sido documentadas previamente y pueden influir en los resultados de ensayos de fagocitosis (Metcalf et al. 2023). En conjunto, los hallazgos del presente trabajo sugieren que *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* contienen compuestos capaces de modular funciones clave de los macrófagos, particularmente la fagocitosis y la supervivencia intracelular bacteriana.

8. CONCLUSIONES

La presente investigación permitió demostrar que los extractos metanólicos de *Illicium verum* y *Clinopodium mexicanum* poseen propiedades biológicas relevantes con potencial aplicación en el ámbito de la terapia oral complementaria.

Entre los hallazgos más importantes, destacó particularmente *Illicium verum* por su significativa actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, microorganismos estrechamente relacionados con la etiopatogenia de la caries dental y otras enfermedades bucales de alta prevalencia. Asimismo, este extracto mostró baja citotoxicidad y una importante capacidad para modular la respuesta fagocítica de los macrófagos, lo que sugiere un posible efecto inmunomodulador con aplicaciones preventivas y terapéuticas en salud oral.

Por su parte, *Clinopodium mexicanum* también evidenció propiedades biológicas relevantes, principalmente en la modulación de la respuesta inmune; sin embargo, su comportamiento citotóxico, que osciló de bajo a moderado, pone de manifiesto la necesidad de continuar investigando sus mecanismos de acción y establecer rangos seguros de uso que permitan optimizar su perfil terapéutico. En cuanto a la actividad hemolítica observada en ambos extractos, este hallazgo no representa una limitante definitiva para su aplicación clínica, sino un parámetro fundamental para orientar futuras investigaciones dirigidas al ajuste de concentraciones y al desarrollo de formulaciones más seguras.

En conjunto, los resultados obtenidos permiten establecer que las propiedades biológicas observadas están estrechamente relacionadas con la presencia de metabolitos bioactivos contenidos en ambas especies vegetales, los cuales constituyen la base de su potencial terapéutico y biotecnológico. De esta manera, la caracterización fitoquímica y biológica realizada aporta evidencia científica que respalda propiedades atribuidas tradicionalmente a la herbolaria, favoreciendo la transición del conocimiento empírico hacia propuestas terapéuticas sustentadas metodológicamente.

Desde el enfoque científico, esta investigación contribuye al fortalecimiento de la evidencia experimental sobre el uso de plantas medicinales en odontología, particularmente de especies con limitada investigación previa en el área bucodental. Asimismo, promueve una visión interdisciplinaria que integra conocimientos etnobotánicos, microbiológicos e inmunológicos, favoreciendo no solo la innovación científica, sino también la preservación y revalorización de la herbolaria tradicional mexicana como fuente potencial de nuevos agentes terapéuticos.

En el ámbito social y de salud pública, los hallazgos de esta investigación adquieren especial relevancia debido a la elevada prevalencia de enfermedades bucales, particularmente la caries dental, la cual continúa afectando de manera desproporcionada a poblaciones con limitaciones económicas y escaso acceso a servicios odontológicos. En muchas comunidades, especialmente rurales o vulnerables, los tratamientos convencionales pueden resultar inaccesibles por su costo, disponibilidad o continuidad terapéutica, lo que favorece la persistencia de enfermedades bucales y sus repercusiones en la calidad de vida, la alimentación, el desempeño escolar y la productividad laboral. Los compuestos de origen

vegetal representa una oportunidad para impulsar el desarrollo de terapias complementarias potencialmente más accesibles, de menor costo y culturalmente cercanas a prácticas tradicionales ya utilizadas por la población. Además, la validación científica de la herbolaria contribuye a disminuir la brecha entre el conocimiento tradicional y la medicina basada en evidencia, promoviendo alternativas terapéuticas más seguras, sustentables y socialmente incluyentes. Por ello, esta investigación fortalece la revalorización de la herbolaria como un recurso con impacto social, capaz de contribuir en el futuro al diseño de estrategias preventivas y terapéuticas complementarias en salud oral, orientadas a mejorar el acceso a la atención odontológica y favorecer una atención más equitativa para la población.

Así mismo, aunque los resultados obtenidos son prometedores, resulta indispensable continuar con investigaciones complementarias que incluyan el aislamiento e identificación de los metabolitos activos responsables de los efectos biológicos observados, así como la evaluación de concentraciones más bajas que permitan disminuir o eliminar la actividad hemolítica. De igual manera, se recomienda ampliar el estudio mediante ensayos microbiológicos adicionales, modelos *in vivo* y estudios clínicos que permitan corroborar su eficacia y seguridad en condiciones más cercanas a la práctica clínica, además de explorar el desarrollo de formulaciones tópicas como enjuagues bucales y geles. En consecuencia, este trabajo establece bases científicas sólidas que respaldan el potencial de la herbolaria como fuente de compuestos bioactivos con aplicación odontológica, impulsando el desarrollo de estrategias terapéuticas complementarias, innovadoras y con impacto social en el ámbito de la salud oral.

Finalmente, se concluye que ambos extractos presentan un perfil biológico de seguridad favorable, lo que sustenta su potencial como alternativas terapéuticas complementarias en odontología y establece bases científicas sólidas para continuar su investigación y futura aplicación en el desarrollo de estrategias innovadoras, accesibles y biológicamente seguras para la salud bucal.

9. LITERATURA CITADA

Alias, A. H. D. y Shafie, M. H. (2024). Star anise (*Illicium verum* Hook. F.) polysaccharides: potential therapeutic management for obesity, hypertension, and diabetes. *Food Chemistry*, 460, 140533. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140533>

Almoudi, M. M., Hussein, A. S., Sarmin, N. I. M. y Hassan, M. I. A. (2023). Antibacterial effectiveness of different zinc salts on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*: An in vitro study. *The Saudi Dental Journal*, 35(7), 883–890. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2023.07.003>

Alonso-Geli, Y., Alonso-Moreno, Y., Falcón-Diéguez, J. E., Lucambio-Miró, L. y Castro-Piñol, M. (2015). Caracterización de la fragilidad osmótica de eritrocitos humanos en la anemia drepanocítica. *Revista Cubana de Química*, 27(2), 110-118.

Alvarado, A. M., García-Trejo, F., Cardador-Martínez, A. y Magallán-Hernández, F. (2020). *Clinopodium mexicanum*: potential and difficulties for the sustainable use of a Mexican medicinal plant. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 19(2).

Amin, K. y Dannenfelser, R. M. (2006). In vitro hemolysis: guidance for the pharmaceutical scientist. *Journal of pharmaceutical sciences*, 95(6), 1173-1176. <https://doi.org/10.1002/jps.20627>

Amtaghri, S., Qabouche, A., Slaoui, M. y Eddouks, M. (2023). Antidiabetic effect of star anise (*Illicium verum*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovascular & Haematological Disorders—Drug Targets*, 23(2), 92–98. <https://doi.org/10.2174/1871529X23666230823112113>

Anushya, P., Priya, A. J. y Arivarasu, L. (2020). Role of herbal medicine in dental health a detailed review. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 7(1), 2185–96.

Arumugam, B., Subramaniam, A. y Alagaraj, P. (2020). A Review on Impact of Medicinal Plants on the Treatment of Oral and Dental Diseases. *Cardiovascular & hematological agents in medicinal chemistry*, 18(2), 79–93. <https://doi.org/10.2174/1871525718666200219140729>

Atazhanova, G. A., Levaya, Y. K., Badekova, K. Z., Ishmuratova, M. Y., Smagulov, M. K., Ospanova, Z. O. y Smagulova, E. M. (2024). Inhibition of the biofilm formation of plant *Streptococcus* mutans. *Pharmaceuticals*, 17(12), 1613. <https://doi.org/10.3390/ph17121613>

Atisakul, K. y Saewan, N. (2023). The antibacterial potential of essential oils of oral care Thai herbs against *Streptococcus* mutans and *Solobacterium moorei*—In vitro approach. *Cosmetics*, 10(5), 125. <https://doi.org/10.3390/cosmetics10050125>

Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med aromat plants*, 4(196), 2167-0412. <http://dx.doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>

Bacher, P., Hohnstein, T., Beerbaum, E., Röcker, M., Blango, M. G., Kaufmann, S., Röhmel, J., Eschenhagen, P., Grehn, C., Seidel, K., Rickerts, V., Lozza, L., Stervbo, U., Nienen, M., Babel, N., Milleck, J., Assenmacher, M., Cornely, O. A., Ziegler, M., Wisplinghoff, H. y Scheffold, A. (2019). Human Anti-fungal Th17 Immunity and Pathology Rely on Cross-Reactivity against *Candida albicans*. *Cell*, 176(6), 1340–1355.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.041>

Bayer, J., Becker, J., Liu, X., Gritsch, L., Daiber, E., Korn, N. y Wolz, C. (2024). Differential survival of *Staphylococcal* species in macrophages. *Molecular Microbiology*, 121(3), 470-480. <https://doi.org/10.1111/mmi.15184>

Bomford, R. (1980). Saponin and other haemolysins (vitamin A, aliphatic amines, polyene antibiotics) as adjuvants for SRBC in the mouse: evidence for a role for cholesterol-binding in saponin adjuvanticity. *International Archives of Allergy and Immunology*, 63(2), 170-177. <https://doi.org/10.1159/000232623>

Borges, A., Abreu, A. C., Ferreira, C., Saavedra, M. J., Simões, L. C. y Simões, M. (2015). Antibacterial activity and mode of action of selected glucosinolate hydrolysis products against bacterial pathogens. *Journal of food science and technology*, 52(8), 4737-4748.

Botello-Ojeda, A. G., Juárez, Z. N., Tepale, N., Rivera-Márquez, J. A. y Conde-Hernández, L. A. (2024). Chemical composition, antioxidant activity and toxicity of the essential oil from *Clinopodium mexicanum*. *Natural Product Research*, 38(20), 3528–3534. <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2253969>

Cárdenas-Garza, G. R., Elizondo-Luévano, J. H., Bazaldúa-Rodríguez, A. F., Chávez-Montes, A., Pérez-Hernández, R. A., Martínez-Delgado, A. J. y Rodríguez-Luis, O. E. (2021). Benefits of cardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) and turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts for their applications as natural anti-inflammatory adjuvants. *Plants*, 10(9), 1908. <https://doi.org/10.3390/plants10091908>

Chen, S., Saeed, A. F., Liu, Q., Jiang, Q., Xu, H., Xiao, G. G. y Duo, Y. (2023). Macrophages in immunoregulation and therapeutics. *Signal transduction and targeted therapy*, 8(1), 207. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01452-1>

Cheng, L., Zhang, L., Yue, L., Ling, J., Fan, M., Yang, D. y Zhou, X. (2022). Expert consensus on dental caries management. *International Journal of Oral Science*, 14(1), 17. <https://doi.org/10.1038/s41368-022-00167-3>

Clarke, J. K. (1924). On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *British Journal of Experimental Pathology*, 5(3), 141.

Cragg, G. M. y Newman, D. J. (2013). Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(6), 3670-3695. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.008>

Cruz-Carrillo, A., Rodríguez, N. y Rodríguez, C. E. (2010). Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 13(2), 117-124.

Cruz-Martínez, C., Diaz-Gómez, M. y Oh, M. S. (2017). Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental treatment in Mexican dentistry: a review. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1992–1998. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1347188>

Cytion. (2025a). Células J774A.1 (número de catálogo 400220). Cytion. <https://www.cytion.com/es/Celulas-J774A.1/400220>

Cytion. (2025b). Células NIH 3T3 (número de catálogo 400101). Cytion. <https://www.cytion.com/es/Celulas-NIH-3T3/400101>

Delgado, A. J. M., Velázquez, U. C., González, J. G. B., Montes, A. C., Villarreal, S. M. L., García, L. E. V., Casas, R. M. S. y Luis, O. E. R. (2020). Evaluation of the Essential Oil of *Citrus paradisi* as an Alternative Treatment against *Candida albicans*. *Open Journal of Stomatology*, 10, 258-270. <https://doi.org/10.4236/ojst.2020.109025>

Deng, Q., Wong, H. M. y Peng, S. (2025). Effect of adiposity status on salivary *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Oral Diseases*, 31(10), 2943–2953. <https://doi.org/10.1111/odi.15111>

Dubale, S., Kebebe, D., Zeynudin, A., Abdissa, N. y Suleman, S. (2023). Phytochemical screening and antimicrobial activity evaluation of selected medicinal plants in Ethiopia. *Journal of experimental pharmacology*, 51-62. <https://doi.org/10.2147/JEP.S379805>

Elchaghaby, M. A., Rashad, S. y Wassef, N. M. (2024). Bioactivity and antibacterial effect of star anise biosynthesized silver nanoparticles against *Streptococcus mutans*: An in vitro study. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1), 259. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04550-x>

Elizondo-Luévano, J. H., Castro-Ríos, R., Vicente, B., Fernández-Soto, P., López-Aban, J., Muro, A. y Chávez-Montes, A. (2021). In Vitro Antischistosomal Activity of the *Argemone mexicana* Methanolic Extract and Its Main Component Berberine. *Iranian journal of parasitology*, 16(1), 91–100. <https://doi.org/10.18502/ijpa.v16i1.5518>

Elizondo-Luévano, J. H., Gomez-Flores, R., Verde-Star, M. J., Tamez-Guerra, P., Romo-Sáenz, C. I., Chávez-Montes, A., Rodríguez-Garza, N. E. y Quintanilla-Licea, R. (2022). In Vitro Cytotoxic Activity of Methanol Extracts of Selected Medicinal Plants Traditionally Used in Mexico against Human Hepatocellular Carcinoma. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(21), 2862. <https://doi.org/10.3390/plants11212862>

Elizondo-Luevano, J. H., Quintanilla-Licea, R., Castillo-Hernández, S. L., Sánchez-García, E., Bautista-Villarreal, M., González-Meza, G. M., Gloria-Garza, M. A., Rodríguez-Luis, O. E., Kluz, M. I. y Kačániová, M. (2024). In Vitro Evaluation of Anti-Hemolytic and Cytotoxic Effects of Traditional Mexican Medicinal Plant Extracts on Human Erythrocytes and Cell Cultures. *Life*, 14(9), 1176. <https://doi.org/10.3390/life14091176>

Elizondo-Luevano, J. H., Verde-Star, J., González-Horta, A., Castro-Ríos, R., Hernández-García, M. E. y Chávez-Montes, A. (2020). In vitro effect of methanolic extract of *Argemone mexicana* against *Trichomonas vaginalis*. *The Korean Journal of Parasitology*, 58(2), 135. <https://doi.org/10.3347/kjp.2020.58.2.135>

Epling, C. y Játiva, C. (1966). A descriptive key to the species of *Satureja* indigenous to North America. *Brittonia*, 18(3), 244-248. <https://doi.org/10.2307/2805363>

Estrada-Reyes, R., Martínez-Vázquez, M., Gallegos-Solís, A., Heinze, G. y Moreno, J. (2010). Depressant effects of *Clinopodium mexicanum* Benth. Govaerts (Lamiaceae) on the central nervous system. *Journal of Ethnopharmacology*, 130(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.03.012>

Farràs, A., Mitjans, M., Maggi, F., Caprioli, G., Vinardell, M. P. y López, V. (2021). *Polypodium vulgare* L.(Polypodiaceae) as a source of bioactive compounds: Polyphenolic profile, cytotoxicity and cytoprotective properties in different cell lines. *Frontiers in pharmacology*, 12, 727528. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.727528>

Farzinnia, G., Anvari, Y. y Siqueira, M. F. (2025). Antimicrobial resistance in oral healthcare: A growing concern in dentistry. *Dentistry Journal*, 13(9), 391. <https://doi.org/10.3390/dj13090391>

García-Marín, G., Reyes-Pérez, V., Cristians, S., Rivero-Cruz, I., Aparicio-Trejo, O. E. y Mata, R. (2026). Antinociceptive efficacy, chemistry, potential toxicity, and quality control procedures of *Clinopodium macrostemon* and *Clinopodium mexicanum*: A comparative analysis. *Journal of Ethnopharmacology*, 357, 120951. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2025.120951>

García, R. H. (1982). *Enciclopedia de plantas medicinales mexicanas*. Editorial Posada.

González-Machorro, J. R., Rodríguez-Tovar, L. E., Gómez-Flores, R., Soto-Dominguez, A., Rodríguez-Rocha, H., Garcia-García, A. y Castillo-Velázquez, U. (2019). Increased phagocytosis and growth inhibition of *Encephalitozoon cuniculi* by LPS-activated J774A. 1 murine macrophages. *Parasitology research*, 118(6), 1841-1848. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06310-0>

Gordon S. (2016). Phagocytosis: An Immunobiologic Process. *Immunity*, 44(3), 463–475. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.026>

Guillén-Meléndez, G. A., Villa-Cedillo, S. A., Pérez-Hernández, R. A., Castillo-Velázquez, U., Salas-Treviño, D., Saucedo-Cárdenas, O., Montes-de-Oca-Luna, R., Gómez-

Tristán, C. A., Garza-Arredondo, A. J., Zamora-Ávila, D. E., de Jesús Loera-Arias, M. y Soto-Domínguez, A. (2021). Cytotoxic Effect In Vitro of *Acalypha monostachya* Extracts over Human Tumor Cell Lines. *Plants*, 10(11), 2326. <https://doi.org/10.3390/plants10112326>

Guo, J., Low, K. S., Mei, L., Li, J. H., Qu, W. y Guan, G. (2020). Use of traditional medicine for dental care by different ethnic groups in New Zealand. *BMC oral health*, 20(1), 280. <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01272-7>

Idris, A. A. M., Asman, S., Mohamed, M. H., Ali, M. A. N. M. y Sulaimi, W. M. F. H. W. (2024). Identifying the phytochemical content in *Illicium verum* (Star Anise) extracts prepared with different polarity solvents based on a simple maceration method. *Enhanced Knowledge in Sciences and Technology*, 4(1), 217-222.

Li, W., Pan, J., Chen, X., Guo, S. y Ouyang, X. (2025). The chemical composition, pharmacological activity, quality control, toxicity, and pharmacokinetics of the genus *Clinopodium* L. *Molecules*, 30(11), 2425. <https://doi.org/10.3390/molecules30112425>

Ling, C. Q., Liao, H. X., Wen, J. R., Nie, H. Y., Zhang, L. Y., Xu, F. R. y Dong, X. (2024). Investigation of the inhibitory effects of *Illicium verum* essential oil nanoemulsion on *Fusarium proliferatum* via combined transcriptomics and metabolomics analysis. *Current Microbiology*, 81(7), 182. <https://doi.org/10.1007/s00284-024-03724-7>

Loesche, W. J. (1986). Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiological reviews*, 50(4), 353-380.

Maasi, G., Štšepetova, J., Jõesaar, M., Olak, J. y Mändar, R. (2022). Different patterns of virulence genes in *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* originating from Estonian toddlers—Mothers cohort. *Microbiology Research*, 13(4), 928–936. <https://doi.org/10.3390/microbiolres13040065>

Marsh, P. D. y Zaura, E. (2017). Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *Journal of clinical periodontology*, 44, S12-S22. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12679>

Martínez-Gordillo, M. J., Bedolla-García, B., Cornejo-Tenorio, G., Fragoso-Martínez, I., García-Peña, M. del R., González-Gallegos, J. G., Lara-Cabrera, S. I. y Zamudio, S. (2017). *Lamiaceae* of México. *Botanical Sciences*, 95(4), 780-806. <https://doi.org/10.17129/botsci.1871>

Martínez-Gordillo, M., Fragoso-Martínez, I., del Rosario-García Peña, M. y Montiel, O. (2013). Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. *Revista mexicana de biodiversidad*, 84(1), 30-86. <https://doi.org/10.7550/rmb.30158>

Metcalf, S., Panasiwicz, M. y Kay, J. G. (2023). Inflammatory macrophages exploited by oral streptococcus increase IL-1B release via NLRP6 inflammasome. *Journal of Leukocyte Biology*, 114(4), 347–357. <https://doi.org/10.1093/jleuko/qiad089>

Milad, S. S., Elshoky, H. A., Ali, S. E., Khattab, M. S., Attia, M. Z. y Azouz, A. M. (2025). Nanoparticle delivery of combined plant extracts enhances immune response in immunocompromised rats. *Scientific Reports*, 15(1), 39015.

Moghadam, E. T., Yazdanian, M., Tahmasebi, E., Tebyanian, H., Ranjbar, R., Yazdanian, A. y Tafazoli, A. (2020). Current herbal medicine as an alternative treatment in dentistry: *In vitro*, *in vivo* and clinical studies. *European journal of pharmacology*, 889, 173665. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173665>

Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)

Negroni, M. (2016). *Microbiología estomatológica* (3.^a ed.). Editorial Médica Panamericana.

Okada, M., Soda, Y., Hayashi, F., Doi, T., Suzuki, J., Miura, K. y Kozai, K. (2005). Longitudinal study of dental caries incidence associated with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in pre-school children. *Journal of medical microbiology*, 54(7), 661-665.

Opalchenova, G. y Obreshkova, D. (1999). Antibacterial action of extracts of *Clinopodium vulgare* L. curative plant. *Drug development and industrial pharmacy*, 25(3), 323-328. <https://doi.org/10.1081/DDC-100102177>

Organización Mundial de la Salud. (2025, marzo 17). *Salud bucodental*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>

Patra, J. K., Das, G., Bose, S., Banerjee, S., Vishnuprasad, C. N., Del Pilar Rodríguez-Torres, M. y Shin, H. S. (2020). Star anise (*Illicium verum*): Chemical compounds, antiviral properties, and clinical relevance. *Phytotherapy Research*, 34(6), 1248–1267. <https://doi.org/10.1002/ptr.6614>

Pérez-Ochoa, M. L., Vera-Guzmán, A. M. y Chávez-Servia, J. L. (2024). Antioxidant Compounds and Activity of the Medicinal Plants Tagetes sp. and Clinopodium sp. from Indigenous Communities in Mexico. *Journal of Medicinal plants and By-Products*, 13(2), 417-428. <https://doi.org/10.22034/jmpb.2023.358021.1460>

Rabinovitch M. (1995). Professional and non-professional phagocytes: an introduction. *Trends in cell biology*, 5(3), 85–87. [https://doi.org/10.1016/s0962-8924\(00\)88955-2](https://doi.org/10.1016/s0962-8924(00)88955-2)

Ramirez, L. S. y Diaz, H. E. (2007). Actividad antibacteriana de extractos y fracciones del ruibarbo (*Rumex conglomeratus*). *Scientia et Technica*, 13(33), 397-400.

Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J. y Minor, L. (2016). Cell viability assays. *Assay guidance manual [Internet]*.

Royal Botanic Gardens, Kew. (s.f.). *Illicium verum* Hook. f. Plants of the World Online. Recuperado de <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:554553-1>

Santoso, T., Khairani, A. F., Bashari, M. H., Ramadhanti, J., Rohmawaty, E., Oktora, M. P. y Wiraswati, H. L. (2025). Patchouli Ethanol Extract Pogostemon cablin Benth. Against Aging Profiles in Doxorubicin-Induced 3T3-L1 Fibroblast Cell Lines. *Aging Medicine*, 8(2), 156-163. <https://doi.org/10.1002/agm2.70014>

Secretaría de Salud. (2012). NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos. Diario Oficial de la Federación. https://www.conbioetica-mexico.salud.gob.mx/descargas/pdf/2016/NORMA_Oficial_Mexicana_NOM-012-SSA3-2012.pdf

Secretaría de Salud. (2012). NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Diario Oficial de la Federación. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4917/salud3a/salud3a.html>

Secretaría de Salud. (2020). *Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) 2018*. Gobierno de México. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/525756/20200116_archivo_SIV_EPAB-18_1nov19_1_.pdf

Selina Wamucii. (s.f.). *Clinopodium mexicanum: Uses, benefits & common names*. Recuperado de <https://www.selinawamucii.com/plants/lamiaceae/clinopodium-mexicanum/>

Sharafan, M., Jaferník, K., Ekiert, H., Kubica, P., Kocjan, R., Blicharska, E. y Szopa, A. (2022). *Illicium verum* (star anise) and trans-anethole as valuable raw materials for medicinal and cosmetic applications. *Molecules*, 27(3), 650. <https://doi.org/10.3390/molecules27030650>

Singer, L. y Bourauel, C. (2023). Herbalism and glass-based materials in dentistry: review of the current state of the art. *Journal of materials science. Materials in medicine*, 34(11), 60. <https://doi.org/10.1007/s10856-023-06764-w>

Singh, S. y Verma, R. (2024). Comprehensive review on pharmacological potential of *Illicium verum*, Chinese herb. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 10, 100411. <https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2024.100411>

Son, E. S., Park, J. W., Kim, S. H., Park, H. R., Han, W., Kwon, O. C. y Lee, C. S. (2020). Anti-inflammatory activity of 3,5,6,7,3',4'-hexamethoxyflavone via repression of the NF- κ B and MAPK signaling pathways in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *Molecular Medicine Reports*, 22(3), 1985–1993.

Spatafora, G., Li, Y., He, X., Cowan, A. y Tanner, A. C. (2024). The evolving microbiome of dental caries. *Microorganisms*, 12(1), 121. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010121>

Standley, P. C. (1922). Trees and shrubs of Mexico. Gliricidia. *Contributions from the US National Herbarium*, 23, 482 - 483.

Takahashi, N. y Nyvad, B. (2011). The role of bacteria in the caries process: Ecological perspectives. *Journal of Dental Research*, 90(3), 294–303. <https://doi.org/10.1177/0022034510379602>

Tran, N., Pham, B. y Le, L. (2020). Bioactive compounds in anti-diabetic plants: From herbal medicine to modern drug discovery. *Biology*, 9(9), 252. <https://doi.org/10.3390/biology9090252>

Treviño-Garza, M. Z., Saldívar-Vázquez, A. K., López-Villarreal, S. M., Lara-Banda, M. D. R., Elizondo-Luevano, J. H., Chávez-Montes, A. y Rodríguez-Luis, O. E. (2023). Production and preliminary characterization of linseed mucilage-based films loaded with cardamom (*Elettaria cardamomum*) and copaiba (*Copaifera officinalis*). *Coatings*, 13(9), 1574. <https://doi.org/10.3390/coatings13091574>

Uribe-Querol, E. y Rosales, C. (2020). Phagocytosis: Our Current Understanding of a Universal Biological Process. *Frontiers in immunology*, 11, 1066. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01066>

Vieira, S. F., Reis, R. L., Ferreira, H. y Neves, N. M. (2025). Plant-derived bioactive compounds as key players in the modulation of immune-related conditions. *Phytochemistry Reviews*, 24(1), 343–460. <https://doi.org/10.1007/s11101-024-09955-7>

Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista mexicana de biodiversidad*, 87(3), 559-902. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.017>

Wakamatsu, N., Yoshioka, Y., Habu, M., Ariyoshi, W. y Yamasaki, R. (2026). Surfactin selectively suppresses acidogenicity in *Streptococcus sobrinus* without inhibiting growth or biofilm formation. *Journal of Oral Biosciences*, 68(2), 100756. <https://doi.org/10.1016/j.job.2026.100756>

Wang, G. W., Hu, W. T., Huang, B. K. y Qin, L. P. (2011). Illicium verum: a review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. *Journal of ethnopharmacology*, 136(1), 10-20.

Warreth, A. (2023). Dental caries and its management. *International Journal of Dentistry*, 2023(1), 9365845. <https://doi.org/10.1155/2023/9365845>

World Medical Association Declaration of Helsinki. (2013). Ethical principles for medical research involving human subjects. <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki/>

Yang, E. C., Hsieh, Y. Y. y Chuang, L. Y. (2021). Comparison of the phytochemical composition and antibacterial activities of the various extracts from leaves and twigs of *Illicium verum*. *Molecules*, 26(13), 3909. <https://doi.org/10.3390/molecules26133909>

Yang, Z. G., Sun, H. X. y Fang, W. H. (2005). Haemolytic activities and adjuvant effect of Astragalus membranaceus saponins (AMS) on the immune responses to ovalbumin in mice. *Vaccine*, 23(44), 5196-5203. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.06.016>

Zaragozá, C., Villaescusa, L., Monserrat, J., Zaragozá, F. y Álvarez-Mon, M. (2020). Potential therapeutic anti-inflammatory and immunomodulatory effects of dihydroflavones, flavones, and flavonols. *Molecules*, 25(4), 1017. <https://doi.org/10.3390/molecules25041017>

Zhang, J. S., Chu, C. H. y Yu, O. Y. (2022a). Oral microbiome and dental caries development. *Dentistry Journal*, 10(10), 184. <https://doi.org/10.3390/dj10100184>

Zhang, Z., Yang, Y., Sun, Q., Zeng, W. y Li, Y. (2022b). Inhibition of biofilm formation and virulence factors of cariogenic oral pathogen *Streptococcus mutans* by shikimic acid. *Microbiology Spectrum*, 10(4), e01199-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01199-22>

Zhu, L., Luo, Y., Xiao, J., Hao, E., Wei, J., Zhao, J. y Luo, H. (2024). Star anise (*Illicium verum* Hook. f.): Dual therapeutic and nutritional potential in food and medicine. *Acupuncture and Herbal Medicine*, 4(4), 563–587. <https://doi.org/10.1097/HM9.0000000000000134>

APÉNDICES

Apéndice 1. Carta de aprobación de la investigación por el comité de bioética.



SPSI – 010613

Folio: 00391

CONBIOETICA-19-CEI-001-20240417

Comisión de Revisión Bioética

Para: Dra. Myriam Angélica De La Garza Ramos
Fecha de recepción: Marzo 2026
Título: EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIBACTERIANO Y DE SEGURIDAD
BIOLÓGICA in vitro DE EXTRACTOS DE *Clinopodium mexicanum* E *Illicium verum*.

Para: Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado

El presente es referencia para protocolo de investigación mencionado en la parte superior.

En la deliberación de este comité, los procedimientos en dicha aplicación conformada por las reglas y el reglamento del DHHS y de la FDA en relación con los temas de uso humano. La aprobación se otorga durante un año.

Como condición para aprobar la investigación, el responsable de la investigación debe de haber leído, establecido y firmado el escrito adjunto de nuestro Documento Federal de Seguridad.

Además, el responsable de la investigación acuerda lo siguiente:

1. A dar información mediante un reporte de revisión periódica, necesaria para la revisión de este protocolo por parte del comité, en intervalos apropiados para evitar el riesgo y asegurar que el protocolo está siendo guiado con las recomendaciones y la supervisión del comité, pero dichos intervalos no deben tener más de un año desde su inicio.
2. Proveer al comité la forma del reporte periódico de revisión, así como el reporte final cuando concluya su proyecto.
3. El uso como documento de consentimiento informado para este estudio, el reporte final aprobado por el comité IRB impreso definiendo su periodo de aprobación.
4. Reportar cualquier evento adverso relacionado con el estudio y que pudiera afectar la salud mental y física del paciente.
5. Este estudio está sujeto a registro durante este periodo de tiempo.

Los registros relacionados con las acciones del comité referentes a este protocolo están en el archivo en la oficina de División de Estudios de Posgrado y de Investigación de esta Facultad.

Fecha de aprobación:

Marzo del 2026

Periodo aprobado:

Marzo del 2027

Responsable de la Investigación:

Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis

1/4

Comité Institucional Investigador



SPSI – 010613

Folio: 00391

CONBIOETICA-19-CEI-001-20240417


Dra. Sonia Martha López Villarreal


Dra. Margarita Reyna Maldonado


Dr. Jaime Adrián Mendoza Tijerina

La siguiente información describe las responsabilidades tomadas del Documento de archivo de Múltiple Seguridad, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Odontología, junto con la Ley Federal de Salud en Materia de Investigación para la Salud (SS, 1987) ANEXO I.

La aprobación del protocolo está sujeta a estas reglas:

- a) Los investigadores declaran y aceptan su responsabilidad para la protección de los derechos y el bienestar del humano así como garantizar su integridad.
- b) Los investigadores que intenten involucrar investigaciones con humanos no estarán exentos de la aplicación de nuestras leyes federales y universitarias.
- c) Los investigadores son responsables de otorgar una copia de la aprobación del IRB firmada, y el documento de consentimiento de cada período de tiempo a menos que el IRB elimine este requerimiento. Todos los documentos de consentimiento firmados se guardados en la oficina administrativa de investigación.
- d) Los investigadores reportarán con rapidez los cambios propuestos en las actividades de investigación relacionados con humanos al IRB.
- e) Los investigadores son responsables para reportar el progreso de la investigación a la oficina administrativa de investigación, tan a menudo como se describe en las bases de riesgos del IRB, pero no menos de una vez al año.
- f) Ni el investigador, ni asociados interinstitucionales, no institucionales en acuerdos de investigación podrán buscar para su beneficio obtención de créditos, la utilización de la información de las intervenciones con el paciente que constituyan una violación a las garantías de su atención médica, sin la aprobación del IRB. Un médico deberá proveer seguridad ética/médica al paciente con la revisión y aprobación del IRB, exigido por la ley.



SPSI – 010613

Folio: 00391

CONBIOÉTICA-19-CEI-001-20240417

- g) Los investigadores deberán notificar al IRB, a la oficina de Investigación Administrativa y a las instituciones oficiales el intento para la admisión de material humano que vayan a ser utilizados en los protocolos de investigación.

Capítulo 1, capítulo 13. Prevalecerá el criterio de respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar, por lo cual se solicitará a los pacientes su aprobación voluntaria.

Artículo 14. Fracción V. Se contará con el consentimiento informado y por escrito del sujeto de investigación, en este caso se solicitará el consentimiento informado del paciente previo a la aplicación de los instrumentos.

Fracción VI. Todos los estudios serán realizados por profesionales de la salud con conocimiento y experiencia para cuidar la integridad del ser humano, bajo la responsabilidad de una institución de atención a la salud.

Fracción VII y VIII. Se contará con el dictamen favorable de la Comisión de Investigación y Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León; la colecta de los datos se realizará solo cuando se cuente con dicha autorización.



SPSI – 010613

Folio: 00391

CONBIOETICA-19-CEI-001-20240417

Artículo 16. Se protegerá la privacidad del sujeto investigado, ya que no se solicitará identificación.

Artículo 17. Fracción I Esta investigación (es) debe de considerarse como riesgo mínimo.

Artículo 18 y 21. Para considerar existente el consentimiento informado del sujeto de investigación recibirá una explicación clara y completa de lo siguiente:

- 1) Justificación de los objetivos de investigación.
- 2) Los procedimientos que vayan a usarse y su propósito, incluyendo la identificación de los procedimientos que son experimentales.
- 3) Las molestias o riesgos esperados.
- 4) Los beneficios que pueda obtener.
- 5) Los procedimientos alternativos que pudieran ser verificados por el sujeto.
- 6) La garantía de recibir respuesta a cualquier pregunta y aclaración de los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con a la investigación en el tratamiento del sujeto.
- 7) La libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio, sin que por ello creen perjuicios para continuar su cuidado y tratamiento.
- 8) La seguridad de que no se identificará al sujeto y se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad.

He leído y comprendido mis responsabilidades antes descritas.


Firma del Investigador Principal

Apéndice 2. Consentimiento informado.



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRA SANGÜÍNEA

Título del estudio:

Evaluación del potencial antibacteriano y de seguridad biológica *in vitro* de extractos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum*

Objetivo del procedimiento:

Identificar la actividad hemolítica de los extractos metanólicos de *Clinopodium mexicanum* e *Illicium verum* en eritrocitos humanos mediante la técnica de inhibición de hemólisis.

Procedimiento:

Se le solicita su autorización para la obtención de una muestra de sangre venosa (aproximadamente 30 mL), la cual será recolectada por personal capacitado utilizando material estéril y desechable. La muestra será utilizada exclusivamente con fines de investigación en el ensayo de hemólisis *in vitro*.

Riesgos y molestias:

La toma de muestra puede ocasionar molestias leves como dolor en el sitio de punción, aparición de hematoma o mareo transitorio. Estos riesgos son mínimos y similares a los de una extracción sanguínea convencional.

Beneficios:

Usted no recibirá un beneficio directo por su participación; sin embargo, su colaboración contribuirá al avance del conocimiento científico en el área de la salud.

Confidencialidad:

La información obtenida será confidencial y se manejará mediante códigos, sin revelar su identidad. Los datos serán utilizados únicamente con fines académicos y de investigación.

Participación voluntaria:

Su participación es completamente voluntaria. Usted puede negarse a participar o retirarse en cualquier momento, sin que esto implique ninguna consecuencia.

Consentimiento:

DECLARO que he recibido información clara y suficiente sobre el estudio, que se me han explicado los procedimientos, riesgos y beneficios, y que todas mis dudas han sido resueltas. Por lo tanto, acepto participar de manera voluntaria.

Investigadores: Jissell Álvarez Sandoval, Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado.

Fecha: 19 octubre 2025

Nombre y firma del participante: Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado

Apéndice 3. Certificados de identificación del material vegetal.

 UANL UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN	 FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA HERBARIO DE LA FCB
--	--

Herbario FCB, UANL a 7 de febrero del 2024

A quien corresponda,

Por este medio me permito extender el siguiente certificado de identificación a Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado cuya muestra fue identificada como: ***Clinopodium mexicanum*** (Benth.) Govaerts, una herbácea de la familia Lamiaceae, nativa de los bosques templados y matorrales del oriente de México. Presenta las siguientes sinonimias: *Calamintha oaxacana* Fernald, *Clinopodium oaxacanum* (Fernald) Standl., *Gardoquia helleri* Peyr., *Gardoquia mexicana* Benth., *Satureja mexicana* (Benth.) Briq. Y *Satureja oaxacana* (Fernald) Standl.

Atentamente



Atte. Maria Magdalena Salinas Rodríguez
Curadora del Herbario FCB, UANL




UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66455
8183294110, ext.6450



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA
HERBARIO DE LA FCB

Herbario FCB, UANL a 7 de febrero del 2024

A quien corresponda,

Por este medio me permito extender el siguiente certificado de identificación a Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado cuya muestra fue identificada como: *Illicium verum* Hook.fil., un árbol de la familia Illiciaceae, nativo del sudeste asiático y exótico en México. Presenta las siguientes sinonimias: *Illicium san-ki* Perr. y *Illicium stellatum* Makino.

Atentamente

Atte. María Magdalena Salinas Rodríguez

Curadora del Herbario FCB, UANL



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P.
66455
8183294110, ext.6456

Apéndice 4. Productos generados.

Int. J. Odontostomat.,
18(4):443-449, 2024.

Patogénesis e Inmunidad de *Candida albicans* en la Mucosa Oral. Revisión de la Literatura

Pathogenesis and Immunity of *Candida albicans* in the Oral Mucosa. Literature Review

Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado¹; María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda¹; Sonia Martha López Villarreal¹;
Laura Elena Villarreal García¹; Alejandra Montoya Rosales² & Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis¹

MARTINEZ, D. A. J.; NAKAGOSHI, C. M. A. A.; LÓPEZ, V. S. M.; VILLARREAL, G. L. E.; MONTOYA R. A. & RODRÍGUEZ, L. O. E. Patogénesis e inmunidad de *Candida albicans* en la mucosa oral. Revisión de la literatura. Int. J. Odontostomat., 18(4):443-449, 2024.

RESUMEN: *Candida albicans* es un hongo dimórfico, levaduriforme, comensal de la microbiota humana que se encuentra en la superficie orofaríngea. El objetivo de este trabajo fue analizar la literatura acerca de *Candida albicans* desde el punto de vista odontológico, epidemiología, patogénesis, respuesta inmune y tratamiento. Se realizó una búsqueda de información en la base de datos de PubMed empleando los términos "*Candida albicans*", en combinación con "oral epidemiology", "pathogenesis", "immune response", "oral candidiasis" y "treatment". Epidemiología- En México, se reportó que un grupo de 60 niños con VIH/sida y otro grupo de 55 niños con desnutrición, mostraron la frecuencia más alta de *Candida* spp con un 51,7 % y 38,2 %, respectivamente. La candidiasis oral se presenta especialmente en pacientes con neoplasias malignas y sometidos a quimioterapia y/o radioterapia con una incidencia del 7 % al 52 % y asociada al uso de prótesis dental en un 15 % a 70 % de las personas. Candidiasis oral- La candidiasis pseudomembranosa aguda es la forma más común de candidiasis oral, factores como la xerostomía, tabaquismo, prótesis orales, caries dental, diabetes y el tratamiento de cáncer aceleran el proceso de la formación de candidiasis oral. Patogénesis- Los factores de virulencia de *Candida albicans* como las adhesinas, la conversión morfogénica y la secreción de enzimas son capaces de causar enfermedad; la candidalísina es un péptido citolítico secretado por hifas de *Candida albicans*. Respuesta inmune- Como parte de la inmunidad innata en las mucosas, las células epiteliales elaboran respuestas inmunitarias complejas que discriminan entre los microbios comensales y patógenos, incluido el *Candida albicans*. Tratamiento- *Candida albicans* ha mostrado resistencia a los azoles. Evaluar la patogénesis e inmunidad de *Candida albicans* en la mucosa oral ayudará a desarrollar estrategias preventivas y terapéuticas efectivas contra la candidiasis oral.

PALABRAS CLAVE: *Candida albicans*, inmunidad oral, respuesta inmune, hongo, candidiasis oral.

INTRODUCCIÓN

Las especies de *Candida* son responsables de la mayoría de las infecciones micóticas humanas, entre las especies más frecuentes se encuentran *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida auris*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* y *Candida krusei* (Ponde *et al.*, 2021). *Candida albicans* es un hongo común de la microbiota humana (Ponde *et al.*, 2021), se encuentra en las superficies de la mucosa oral, gastrointestinal, genital humana y de la piel (Lopes & Lionakis, 2022); es considerado un comensal inofensivo en individuos sanos, sin embargo, varios factores pueden conducir a su crecimiento excesivo y causar una serie de complicaciones dentro del

huésped, desde infecciones superficiales localizadas hasta candidiasis diseminada sistémica que pone en peligro la vida (Ponde *et al.*, 2021). Existe tres fases biológicas de *Candida albicans*, que son levadura, pseudohifas e hifas. Las hifas, que representan una fase importante en el proceso de la enfermedad, pueden causar daño tisular al invadir las células epiteliales de la mucosa y luego conducir a una infección de la sangre (Chen *et al.*, 2020).

Se estima que entre el 30 % y el 60 % de los adultos sanos llevan especies de *Candida* dentro de la cavidad oral (Hellstein & Marek, 2019). *Candida*

¹ Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Odontología, Nuevo León, México.

² Universidad Autónoma de Nuevo León, Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud, Nuevo León, México.

Received: 2024-05-21 Accepted: 2024-08-14

albicans es el principal agente causal de la candidiasis oral, infección fúngica oportunista que comúnmente afecta a la mucosa (Vila *et al.*, 2020), las personas con sistemas inmunitarios comprometidos, como las personas seropositivas, los recién nacidos y los ancianos, son susceptibles a la infección por *Candida albicans* (Du *et al.*, 2022). La comprensión de la patogénesis e inmunidad de *Candida albicans* en la mucosa oral es crucial para desarrollar estrategias preventivas y terapéuticas efectivas contra la candidiasis oral, especialmente en pacientes con condiciones de salud comprometidas o que utilizan algún tipo de prótesis dental. El objetivo del estudio fue evaluar la literatura acerca de *Candida albicans* desde el punto de vista odontológico, epidemiología, patogénesis, respuesta inmune y tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó una búsqueda de información en la base de datos de PubMed empleando los términos "*Candida albicans*", en combinación con "oral epidemiology", "pathogenesis", "immune response", "oral candidiasis" y "treatment".

RESULTADOS

Epidemiología: *Candida albicans* se encuentra en un 18,5 % a 40,9 % de la población sana (Du *et al.*, 2022). Se encuentra en la mucosa oral del 30 % al 70 % de los individuos sanos (Millet *et al.*, 2020). La carga general de candidiasis invasiva sigue siendo alta, especialmente en personas vulnerables, como los pacientes inmunodeprimidos y los ancianos (Quindós *et al.*, 2018). En México, se reportó que un grupo de 60 niños con VIH/sida bajo terapia antirretroviral altamente activa, y otro grupo de 55 niños con desnutrición, mostraron la frecuencia más alta de *Candida* spp con un 51,7 % y 38,2 %, respectivamente (Gaitán-Cepeda *et al.*, 2012), además, se ha encontrado la presencia de *Candida* en un promedio de 40 a 60 % de las prótesis, debajo de la superficie de la prótesis superior (Macera *et al.*, 2017). Se ha reportado una incidencia del 7 % al 52 % de candidiasis oral en pacientes con neoplasias malignas de cabeza y cuello, neoplasias hematopoyéticas, sometidos a quimioterapia y radioterapia (Di Cosola, 2021). En pacientes sometidos a radioterapia se encontró que el recuento de *Candida albicans* aumenta significativamente (Funahara *et al.*, 2022). Además, se ha reportado la presencia de *Candida albicans* en la cavidad oral en los pacientes con carcinoma de células escamosas orales (Mäkinen *et al.*, 2018), otros

estudios reportan varias correlaciones entre *Candida albicans* y la infección por virus del papiloma humano en la progresión del cáncer oral en pacientes pediátricos y adolescentes, en donde *Candida albicans* puede producir carcinógenos como la nitrosamina o promover el desarrollo de carcinoma oral (Muzio *et al.*, 2021), así mismo, se ha mencionado una coinfección con el virus del papiloma humano, el virus de Epstein Barr y *Candida albicans* en la leucoplasia oral y que podría estar asociada con cambios displásicos (Erira *et al.*, 2021). La prevalencia de estomatitis de la dentadura postiza oscila entre el 15 % y más del 70 % en las dentaduras postizas mal ajustadas, aumentando la capacidad de *Candida albicans* para colonizar tanto la dentadura postiza como las superficies de la mucosa oral (Gendreau & Loewy, 2011). La hiposalivación se asoció con una mayor prevalencia de colonización oral de *Candida*, por lo tanto, la hiposalivación es un factor de riesgo para una peor salud oral y la colonización oral de *Candida* en ancianos dentados independientes (Buranarom *et al.*, 2020). La coinfección de *Candida albicans* y *P. gingivalis* está involucrada en la periodontitis activa en personas de mediana edad y de edad avanzada (Oka *et al.*, 2022). En base a todo lo anterior, se puede comprender que *Candida albicans* puede desarrollarse en situaciones propicias, además estar relacionada con diferentes enfermedades, no solo de la cavidad oral, por lo que, es importante conocerlas para poder prevenir o detectar a tiempo la enfermedad.

Candidiasis oral: Es una infección de la cavidad oral provocada por *Candida albicans*, generalmente se desarrolla en recién nacidos, ancianos, individuos con enfermedades inmunocomprometidas como el VIH/SIDA y asociada al uso crónico de esteroides y antibióticos sistémicos. La candidiasis pseudomembranosa aguda es la forma más común de candidiasis oral (Taylor *et al.*, 2023). Esta se presenta formando placas blancas, suaves y ligeramente elevadas, más comúnmente en la lengua y la mucosa oral (R & Rafiq, 2023). Factores como la xerostomía, tabaquismo, prótesis orales, caries dental, diabetes y tratamiento de cáncer aceleran el proceso de la formación de candidiasis oral (Patel, 2022). La candidiasis orofaríngea ocurre en hasta el 90 % de los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (Pavlova & Sharafutdinov, 2020), por otro lado, la candidiasis pseudomembranosa y la candidiasis eritematosa se han reportado como las más comunes en pacientes seropositivos de los países del sudeste asiático (Karajacob *et al.*, 2022). En cuanto a la población pediátrica, se ha reportado

la candidiasis pseudomembranosa oral como la manifestación clínica predominante en los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (Rafat *et al.*, 2021). Así mismo, se reportó que la xerostomía, la candidiasis oral y la disfagia fueron las tres afecciones orales más comunes en pacientes terminales con tratamientos paliativos (Venkatasalu *et al.*, 2020). Por otro lado, se encontró que las personas con presencia de *Candida* spp. tienen una mayor prevalencia de caries dental en comparación con las personas sin estos microorganismos en la cavidad oral (Eidt, 2022). Como odontólogos, es importante conocer la enfermedad de candidiasis oral, ya que puede presentarse en cualquier paciente, independientemente de la edad, para poder diagnósticarla oportunamente y tratarla de la manera más adecuada y efectiva para cada paciente.

Patogénesis: *Candida albicans* posee una habilidad para causar enfermedad, debido a sus factores de virulencia, como las adhesinas, la conversión morfogénica del microorganismo de la fase levaduriforme a la fase filamentos, la secreción de enzimas como proteasas y fosfolipasas y la inmunomodulación de los mecanismos de defensa del hospedero. La adhesión de *Candida albicans* a las células epiteliales de la cavidad oral permite la colonización, este proceso se da mediante interacciones similares a las de una lectina, donde la parte proteica de la mananoproteína tipo lectina de *Candida* se une a un receptor con componentes de carbohidratos en la superficie de las células del huésped (Panizo & Reviakina, 2001). Se ha observado que algunas cepas de *Candida albicans* son capaces de catalizar la formación de nitrosaminas a partir de precursores de la saliva, por lo que se ha asociado a lesiones precancerosas y cancerosas de la cavidad oral como causa de cambios displásicos de la mucosa oral debido a la producción de nitrosaminas endógenas, a partir del nitrito sódico de la saliva y ciertas aminos presentes en alimentos (Gili *et al.*, 2021). Por otro lado, la candidalísina es un péptido citolítico descrito recientemente y secretado por formas hifales patógenas de *Candida albicans* y desempeña un papel importante en la activación de la inmunidad antifúngica innata durante la infección (Ho *et al.*, 2021), ya que contribuye en la defensa fúngica al dañar las membranas de las células inmunitarias, proporcionando una ruta de escape del entorno hostil del fagosoma (König *et al.*, 2020), además actúa en la activación del inflammasoma y la inducción del daño celular y esta estrechamente relacionada con los

factores de virulencia de *Candida albicans* (Engku-Nasrullah-Satiman *et al.*, 2020). La patogénesis de *Candida albicans* es un aspecto crítico en el estudio de enfermedades infecciosas, ya que esta levadura es un patógeno oportunista que puede causar infecciones graves, la habilidad de *Candida albicans* para adaptarse a diferentes entornos del cuerpo humano y su capacidad de cambiar de forma, le otorgan un gran potencial para invadir tejidos y evadir la respuesta inmunitaria, por lo cual resulta necesario comprender estos mecanismos de patogénesis para desarrollar estrategias de prevención y tratamiento.

Respuesta inmune: Los factores de virulencia proporcionan factores inmunoestimuladores, activando las células dendríticas y promoviendo la infiltración y activación de las células T, por lo que, dirigirse a los factores de virulencia puede reducir el riesgo de desarrollo de resistencia en las infecciones por *Candida* (Staniszewska, 2020). Como parte esencial de la inmunidad innata en las mucosas, las células epiteliales elaboran respuestas inmunitarias complejas que discriminan entre los microbios comensales y patógenos, incluido el *Candida albicans* (Pellon *et al.*, 2020). *Candida albicans* es capaz de remodelar su pared celular en respuesta a las condiciones ambientales para evadir los mecanismos de eliminación del huésped y establecer una infección en nichos, como la mucosa oral. Los fagocitos desempeñan un papel clave en la eliminación de *Candida albicans*, que está mediada principalmente por las interacciones del patrón molecular asociado al patógeno y del receptor de reconocimiento del patrón (Bojang *et al.*, 2021). El reconocimiento entre los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) y los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) de hongos es el paso fundamental para iniciar una respuesta inmune, además las células epiteliales y endoteliales son barreras importantes para los agentes de infección y tienen efectos indispensables en la dirección de las respuestas antifúngicas y la interacción y la cooperación entre los diferentes fagocitos proporcionan una protección efectiva contra la diseminación de *Candida albicans* (Qin *et al.*, 2016). Los fagocitos residentes en el tejido, como los macrófagos y las células dendríticas, son cruciales para mantener la homeostasis en las mucosas, después de la formación de hifas y la invasión de *Candida albicans*, los neutrófilos y los monocitos se reclutan rápidamente en el sitio de la infección para mediar en la eliminación del patógeno a través de varias respuestas antifúngicas (d'Enfert *et al.*, 2021). La alta infiltración de leucocitos polimorfonucleares en

el lugar de la infección contribuye a un medio de bajo nivel de oxígeno, por lo que, bajo privación de oxígeno, la infección por *Candida albicans* alteró las respuestas específicas de los leucocitos polimorfonucleares y no fueron capaces de fagocitar, por lo que, la falta de lanzamiento de una respuesta adecuada fue causada por el enmascaramiento de la pared celular de *Candida albicans* de β -glucano tras la exposición a bajos niveles de oxígeno, lo que impidió la detección de los patrones moleculares asociados a patógenos por Dectin-1 en las superficies de los leucocitos polimorfonucleares, contribuyendo a la evasión inmune y a la mejora de la supervivencia de los hongos (Lopes *et al.*, 2018). En la cavidad oral, la vagina y el intestino, *Candida albicans* interactúa primero con las células epiteliales y endoteliales locales. Las células epiteliales generalmente actúan como una barrera física pasiva que impide que *Candida albicans* invada a través del tejido subyacente. La integridad epitelial generalmente se mantiene a través de uniones apretadas (conexiones celulares interepiteliales) que sellan efectivamente los espacios entre la superficie celular y la lámina propia de la mucosa, y que también evita

la invasión intraepitelial de *Candida albicans* (Zaongo *et al.*, 2023). Otro estudio reportó que las respuestas interleucinas (IL) 17 y células Th17 son muy relevantes para mantener la integridad de la barrera y prevenir las infecciones patógenas por el hongo comensal oral *Candida albicans*, por otro lado, las respuestas aberrantes de IL-17 y células Th17 están implicadas en la conducción de la patogénesis de la periodontitis (Gaffen & Moutsopoulos, 2020). Por otro lado, en la cavidad oral, *S. gordonii* promueve el crecimiento de hongos al proporcionar una fuente de carbono a *Candida albicans* y, a cambio, *Candida albicans* aumenta la probabilidad de que *S. gordonii* pueda sobrevivir y persistir en la cavidad oral al reducir la tensión de oxígeno y liberar factores de crecimiento bacterianos derivados del metabolismo de los nutrientes (Ponde *et al.*, 2021). Para poder tratar la enfermedad de la candidiasis oral, primeramente se debe conocer como actúa el sistema inmune frente a la presencia del patógeno causante, en este caso *Candida albicans*, por lo cuál, la patogénesis y la inmunología es importante para el abordaje correcto del tratamiento (Fig. 1).

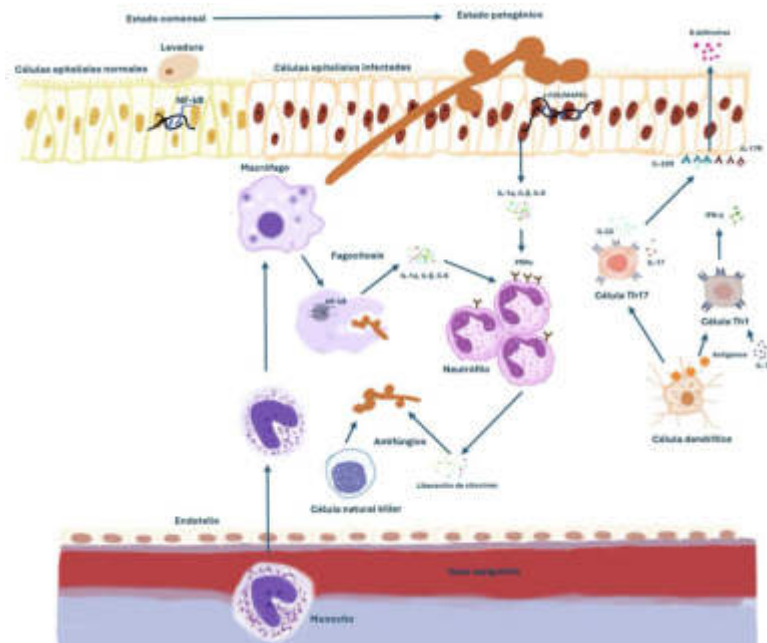


Fig. 1. Patogénesis y respuesta inmune durante la invasión de la mucosa oral de *Candida albicans*.

Tratamiento: *Candida albicans* ha demostrado resistencia a los azoles (Chen *et al.*, 2021). El aumento de la resistencia a éstos fármacos y a las equinocandinas por parte de las especies de *Candida* es un problema cada vez más grave en los entornos clínicos de todo el mundo (Pristov & Ghannoum, 2019). Sin embargo, estudios han reportado que la nistatina y el miconazol son los medicamentos antifúngicos tópicos más utilizados, son muy efectivos, pero necesitan un largo tiempo de uso para erradicar la infección micótica, mientras que otras alternativas tópicos para la candidiasis oral, son la anfotericina B o el clotrimazol, los cuales no están disponibles en muchos países. Las equinocandinas solo se pueden usar por vía intravenosa (Quindós *et al.*, 2019). Se encontró que en odontólogos, la nistatina fue el agente antifúngico más comúnmente recetado, seguido del miconazol que se prescribió para uso tópico (Al-Shayyab *et al.*, 2015). Además se ha demostrado que la nistatina es el medicamento más sensible, mientras que el ketonazol fue el fármaco más resistente, seguido por el fluconazol contra aislados orales de *Candida* (Ambe *et al.*, 2020). Por otro lado, se han reportado nuevas formas de administración de medicamentos orales para la terapia antifúngica, como los nanocoloides, nanopartículas, síntesis de nano-compuestos y diseño de plataformas poliméricas para satisfacer la actividad antifúngica sostenida y la alta biocompatibilidad con la mucosa oral (Anuta *et al.*, 2022). Varios estudios reafirman que los probióticos son potencialmente efectivos para reducir la morbilidad, mejorar los síntomas clínicos y reducir los recuentos de *Candida* oral en la candidiasis oral (Hu *et al.*, 2019). Ya que, se ha reportado en estudios *in vitro* que el consumo oral de *Lactobacillus rhamnosus* en ratones infectados con *Candida albicans* abolió la región pseudomembranosa de la lengua del ratón; también suprimió los cambios en los niveles de expresión del receptor de reconocimiento de patrones y los genes de la quimocina, llegando a la conclusión que esta cepa probiótica tiene potencial protector o terapéutico contra la candidiasis oral (Ito *et al.*, 2021). Así mismo, la goma probiótica-gellan es un biomaterial prometedor y se puede utilizar como sistema portador para promover la colonización oral de probióticos que previenen la candidiasis oral, ya que proporciona una liberación de células de *L. paracasei* durante 24 horas que fue suficiente para inhibir el crecimiento de *Candida albicans* (Ribeiro *et al.*, 2020). Estudios mencionan la importancia del desarrollo de nuevos medicamentos antifúngicos y mejores enfoques terapéuticos para la candidiasis se puede lograr en un futuro próximo con un progreso continuo en la comprensión de los mecanismos de la

patogénesis de la *Candida* (Mba & Nweze, 2020). Se ha reportado en la literatura que existen diversos efectos adversos a los antifúngicos, por lo cual, la búsqueda de diferentes alternativas de tratamiento para la candidiasis oral es de gran importancia.

CONCLUSIÓN

Candida albicans es un hongo oportunista que forma parte de la microbiota normal en la mucosa oral. Sin embargo, bajo ciertas condiciones como inmunosupresión, antibioterapia prolongada, uso de prótesis dentales y enfermedades sistémicas puede desencadenar infecciones locales. Al conocer la patogénesis de *Candida albicans* como los mecanismos de colonización, invasión y virulencia, los odontólogos pueden seleccionar terapias dirigidas específicamente contra este patógeno, minimizando la resistencia antifúngica y optimizando los resultados del tratamiento. La interacción entre *Candida albicans* y el sistema inmunológico es crucial, ya que a través de la respuesta inmune innata se detecta la presencia del hongo y se activan mecanismos efectorios, como la liberación de citocinas proinflamatorias, por otro lado, la respuesta adaptativa, mediada por células T, también contribuye a la eliminación del hongo. Es importante conocer y comprender la patogénesis e inmunidad de *Candida albicans* en la mucosa oral para así poder desarrollar estrategias preventivas y terapéuticas efectivas, especialmente en pacientes con condiciones de salud comprometidas.

AGRADECIMIENTOS. Al Programa de Apoyo a la Ciencia, Tecnología e Innovación, ProACTI, 122-BYQ-2024.

MARTINEZ, D. A. J.; NAKAGOSHI, C. M. A. A.; LÓPEZ, V. S. M.; VILLARREAL, G. L. E.; MONTOYA R. A. & RODRÍGUEZ, L. O. E. Pathogenesis and immunity of *Candida albicans* in the oral mucosa. Literature review. *Int. J. Odontostomat.*, 18(4):443-449, 2024.

ABSTRACT: *Candida albicans* is a dimorphic, yeast-like fungus, commensal of the human microbiota found on the oropharyngeal surface. The objective of this study was to analyze the literature regarding *Candida albicans* from the dental point of view, epidemiology, pathogenesis, immune response, and treatment. An information search was carried out in the PubMed database using the terms "*Candida albicans*", in combination with "oral epidemiology", "pathogenesis", "immune response", "oral candidiasis" and "treatment". Epidemiology- In Mexico, it was reported that a group of 60 children with HIV/AIDS and another group of 55 children with malnutrition showed the highest frequency of

Candida spp with 51.7% and 38.2% respectively. Oral candidiasis occurs especially inpatients with malignant neoplasms and undergoing chemotherapy and/or radiotherapy with an incidence of 7 % to 52 % and associated with the use of dental prostheses in 15% to 70% of people. Oral candidiasis - Acute pseudomembranous candidiasis is the most common form of oral candidiasis. Factors such as xerostomia, smoking, oral prostheses, dental caries, diabetes, and cancer treatment accelerate the process of oral candidiasis formation. Pathogenesis- *Candida albicans* virulence factors such as adhesins, morphogenetic conversion and enzyme secretion can cause disease; Candidalysin is a cytolytic peptide secreted by *Candida albicans* hyphae. Immune response- As part of innate immunity in mucosa, epithelial cells mount complex immune responses that discriminate between commensal and pathogenic microbes, including *C. albicans*. Treatment- *Candida albicans* has shown resistance to azoles. Evaluating the pathogenesis and immunity of *Candida albicans* in the oral mucosa will help develop effective preventive and therapeutic strategies against oral candidiasis.

KEY WORDS: *Candida albicans*, oral immunity, immune response, fungus, oral candidiasis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Shayyab, M. H.; Abu-Hammad, O. A.; Al-Omiri, M. K. & Dar-Odeh, N. S. Antifungal prescribing pattern and attitude towards the treatment of oral candidiasis among dentists in Jordan. *Int. Dent. J.*, 65(4):216-26, 2015.
- Ambe, N. F.; Longdoh, N. A.; Tebid, P.; Bobga, T. P.; Nkufusai, C. N.; Ngwa, S. B.; Nsai, F. S. & Cumber, S. N. The prevalence, risk factors and antifungal sensitivity pattern of oral candidiasis in HIV/AIDS patients in Kumba District Hospital, Southwest Region, Cameroon. *Pan. Afr. Med. J.*, 36:23, 2020.
- Anuta, V.; Tallanu, M. T.; Dinu-Pirvu, C. E.; Ghica, M. V.; Prisada, R. M.; Albu-Kaya, M. G. & Popa, L. Molecular mapping of antifungal mechanisms accessing biomaterials and new agents to target oral candidiasis. *Int. J. Mol. Sci.*, 23(14):7520, 2022.
- Bojang, E.; Ghuman, H.; Kumwenda, P. & Hall, R. A. Immune Sensing of *Candida albicans*. *J. Fungi (Basel)*, 7(2):119, 2021.
- Buranom, N.; Komin, O. & Matangkasombut, O. Hyposalivation, oral health, and *Candida* colonization in independent dentate elders. *PLoS One*, 15(11):e0242832, 2020.
- Chen, H.; Zhou, X.; Ren, B. & Cheng, L. The regulation of hyphae growth in *Candida albicans*. *Virulence*, 11(1):337-48, 2020.
- Chen, J.; Hu, N.; Xu, H.; Liu, Q.; Yu, X.; Zhang, Y.; Huang, Y.; Tan, J.; Huang, X. & Zeng, L. Molecular Epidemiology, Antifungal Susceptibility, and Virulence Evaluation of *Candida* Isolates Causing Invasive Infection in a Tertiary Care Teaching Hospital. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 11:721439, 2021.
- d'Enfert, C.; Kaune, A. K.; Alaban, L. R.; Chakraborty, S.; Cole, N.; Delavy, M.; Kosmala, D.; Marsaux, B.; Fróis-Martins, R.; Morelli, M.; Rosati, D.; Valentine, M.; Xie, Z.; Emritoll, Y.; Warn, P. A.; Bequet, F.; Bougnoux, M. E.; Bornes, S.; Gresnigt, M. S.; Hube, B.; Jacobsen, I. D.; Legrand, M.; Leibundgut-Landmann, S.; Manichanh, C.; Munro, C. A.; Netea, M. G.; Queiroz, K.; Roget, K.; Thomas, V.; Thorat, C.; Van-den-Abbeele, P.; Walker, A. W. & Brown, A. J. P. The impact of the Fungus-Host-Microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: current knowledge and new perspectives. *FEMS Microbiol. Rev.*, 45(3):fuaa060, 2021.
- Di Cosola, M.; Cazzolla, A. P.; Charitos, I. A.; Ballini, A.; Inchingolo, F. & Santacroce, L. *Candida albicans* and oral carcinogenesis. A brief review. *J. Fungi*, 7(6):476, 2021.
- Du, Q.; Ren, B.; Zhou, X.; Zhang, L. & Xu, X. Cross-kingdom interaction between *Candida albicans* and oral bacteria. *Front. Microbiol.*, 13:911623, 2022.
- Eidt, G.; Waltermann, E. D. M.; Hilgert, J. B. & Arthur, R. A. *Candida* and dental caries in children, adolescents, and adults: A systematic review and meta-analysis. *Arch. Oral Biol.*, 119:104876, 2020.
- Engku-Nasrullah-Satiman, E. A. F.; Ahmad, H.; Ramzi, A. B.; Abdul Wahab, R.; Kaderi, M. A.; Wan Harun, W. H. A. & Arzmi, M. H. The role of *Candida albicans* candidalysin ECE1 gene in oral carcinogenesis. *J. Oral Pathol. Med.*, 49(9):835-41, 2020.
- Ereira, A. T.; Navarro, A. F. R. & Robayo, D. A. G. Human papillomavirus, Epstein-Barr virus, and *Candida albicans* co-infection in oral leukoplakia with different degrees of dysplasia. *Clin. Exp. Dent. Res.*, 7(5):914-23, 2021.
- Funahara, R.; Soutome, S.; Funahara, M.; Tsuda, S.; Hasegawa, T.; Umeda, M. & Akashi, M. Effects of a miconazole oral patch on preventing development of oral candidiasis in patients with head and neck cancer undergoing radiotherapy: results of a preliminary study quantifying the prevalence of *Candida albicans* in saliva. *Support Care Cancer*, 30(1):907-14, 2022.
- Gaffen, S. L. & Moutsopoulos, N. M. Regulation of host-microbe interactions at oral mucosal barriers by type 17 immunity. *Sci. Immunol.*, 3(543):eaau4594, 2020.
- Gaitán-Cepeda, L. A.; Sánchez-Vargas, L. O.; Pavia-Ruz, N.; Muñoz-Hernández, R.; Villegas-Ham, J. & Caballos-Salobrena, A. *Candida* bucal en niños mexicanos con VIH/sida, desnutrición o marginación social. *Rev. Panam. Salud Públ.*, 31(1):48-53, 2012.
- Gendreau, L. & Loewy, Z. G. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J. Prosthodont.*, 20(4):251-60, 2011.
- Gili, M. A.; Segovia, S. M. & Lezcano, M. R. Producción de nitrosaminas por *Candida albicans* y su relación con lesiones de la cavidad oral. Revisión de la literatura. *Odont. SM.*, 24(1):85-8, 2021.
- Hellstein, J. W. & Marek, C. L. Candidiasis: manifestaciones rojas y blancas en la cavidad oral. *Pathol. Cabeza Cuello*, 13(1):25-32, 2019.
- Ho, J.; Camilli, G.; Griffiths, J. S.; Richardson, J. P.; Kichik, N. & Naglik, J. R. *Candida albicans* and candidalysin in inflammatory disorders and cancer. *Immunology*, 162(1):11-6, 2021.
- Hu, L.; Zhou, M.; Young, A.; Zhao, W. & Yan, Z. In vivo effectiveness and safety of probiotics on prophylaxis and treatment of oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health*, 19(1):140, 2019.
- Ito, R.; Mine, Y.; Yumisashi, Y.; Yoshioka, R.; Hamaoka, M.; Taji, T.; Murayama, T. & Nikawa, H. In Vivo efficacy of Lactocaseibacillus rhamnosus L8020 in a mouse model of oral candidiasis. *J. Fungi (Basel)*, 7(5):322, 2021.
- Karajacob, A. S.; Al-Maleki, A. R. & Tay, S. T. Revisiting oral thrush in South-East Asian patients: A review of published studies (2000-2020). *J. Oral Pathol. Med.*, 51(1):98-105, 2022.
- König, A.; Hube, B. & Kasper, L. The dual function of the fungal toxin candidalysin during *Candida albicans*—macrophage interaction and virulence. *Toxins*, 12(8):469, 2020.
- Lopes, J. P. & Lionakis, M. S. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence*, 13(1):89-121, 2022.
- Lopes, J. P.; Stylianou, M.; Backman, E.; Holmberg, S.; Jass, J.; Claesson, R. & Urban, C. F. Evasion of Immune Surveillance in Low Oxygen Environments Enhances *Candida albicans* Virulence. *mBio*, 6(9):e02120-18, 2018.
- Macera, N.; Bonilla, C. R. & Ayala, J. L. Frecuencia de candidiasis oral asociada al uso de prótesis dentales en pacientes de la Clínica Odontológica de la Universidad Anáhuac Norte. *Rev. ADM. Huixquilucan*, 74(2):74-8, 2017.

- Mäkinen, A.; Nawaz, A.; Mäkitie, A. & Meurman, J. H. Role of Non-*Albicans Candida* and *Candida albicans* in oral squamous cell cancer patients. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 76(12):2564-71, 2018.
- Mba, I. E. & Nweze, E. I. Mechanism of *Candida* pathogenesis: revisiting the vital drivers. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 39(10):1797-819, 2020.
- Millet, N.; Solis, N. V. & Swidergall, M. Mucosal IgA prevents commensal *Candida albicans* dysbiosis in the oral cavity. *Front. Immunol.*, 11:555363, 2020.
- Muzio, L. L.; Ballini, A.; Cantore, S.; Bottalico, L.; Charitos, I. A.; Ambrosino, M.; Nocini, R.; Malcangi, A.; Dioguardi, M.; Cazzola, A. P.; Brauner, E.; Santacroce, L. & Cosola, M. D. Overview of *Candida albicans* and human papillomavirus (HPV) infection agents and their biomolecular mechanisms in promoting oral cancer in pediatric patients. *Biomed. Res. Int.*, 2021:7312611, 2021.
- Oka, I.; Shigeishi, H. & Ohta, K. Co-Infection of oral *Candida albicans* and *Porphyromonas gingivalis* is associated with active periodontitis in middle-aged and older Japanese people. *Medicina (Kaunas)*, 58(6):723, 2022.
- Panizo, M. M. & Reviakina, V. E. R. A. *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 21(2):38-45, 2001.
- Patel, M. Oral Cavity and *Candida albicans*: Colonisation to the development of infection. *Pathogens*, 11(3):335, 2022.
- Pavlova, A. & Sharafutdinov, I. Recognition of *Candida albicans* and role of innate type 17 immunity in oral candidiasis. *Microorganisms*, 2(8):1340, 2020.
- Pellon, A.; Sadeghi-Nasab, S. D. & Moyes, D. L. New Insights in *Candida albicans* innate immunity at the mucosa: Toxins, epithelium, metabolism, and beyond. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 10:81, 2020.
- Ponde, N. O.; Lortal, L.; Ramage, G.; Naglik, J. R. & Richardson, J. P. *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. *Crit. Rev. Microbiol.*, 47(1):91-111, 2021.
- Pristov, K. E. & Ghannoum, M. A. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clin. Microbiol. Infect.*, 25(7):792-8, 2019.
- Qin, Y.; Zhang, L.; Xu, Z.; Zhang, J.; Jiang, Y. Y.; Cao, Y. & Yan, T. Innate immune cell response upon *Candida albicans* infection. *Virulence*, 7(5):512-26, 2016.
- Quindós, G.; Gil-Alonso, S.; Marcos-Arias, C.; Sevillano, E.; Mateo, E.; Jauregizar, N. & Eraso, E. Therapeutic tools for oral candidiasis: Current and new antifungal drugs. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.*, 24(2):e172-e180, 2019.
- Quindós, G.; Marcos-Arias, C.; San-Millán, R.; Mateo, E. & Eraso, E. The continuous changes in the aetiology and epidemiology of invasive candidiasis: from familiar *Candida albicans* to multiresistant *Candida auris*. *Int. Microbiol.*, 21(3):107-19, 2018.
- R, A. N. & Rafiq, N. B. *Candidiasis*. 2023 May 29. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing., 2023.
- Rafat, Z.; Sasani, E.; Salimi, Y.; Hajimohammadi, S.; Shenagari, M. & Roostaee, D. The prevalence, etiological agents, clinical features, treatment, and diagnosis of HIV-associated Oral Candidiasis in Pediatrics Across the world: A systematic review and meta-analysis. *Front. Pediatr.*, 9:805527, 2021.
- Ribeiro, F. C.; Junqueira, J. C.; Dos-Santos, J. D.; de-Barros, P. P.; Rossoni, R. D.; Shukla, S.; Fuchs, B. B.; Shukla, A. & Mylonakis, E. Development of probiotic formulations for oral candidiasis prevention: Gellan gum as a carrier to deliver *Lactobacillus paracasei* 28.4. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 64(6):e02323-19, 2020.
- Staniszewska, M. Virulence factors in *Candida* species. *Curr. Protein Pept. Sci.*, 21(3):313-23, 2020.
- Taylor, M.; Brizuela, M. & Raja, A. *Oral Candidiasis*. StatPearls Publishing., PMID:31424866, 2023.
- Venkatasalu, M. R.; Murang, Z. R.; Ramasamy, D. T. R. & Dhaliwal, J. S. Oral health problems among palliative and terminally ill patients: an integrated systematic review. *BMC Oral Health*, 20(1):79, 2020.
- Vila, T.; Sultan, A. S.; Montelongo-Jauregui, D. & Jabra-Rizk, M. A. Oral candidiasis: A disease of opportunity. *J. Fungi (Basel)*, 6(1):15, 2020.
- Zaongo, S. D.; Ouyang, J.; Isnard, S.; Zhou, X.; Harypursat, V.; Cui, H.; Routy, J. P. & Chen, Y. *Candida albicans* can foster gut dysbiosis and systemic inflammation during HIV infection. *Gut Microbes.*, 15(1):2167171, 2023.

Dirección para correspondencia:
Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis
Cirujano Dentista, U.A.N.L.
Profesora de Microbiología Oral y Metodología Científica
Investigadora en Química de Productos Naturales
Jefa del Departamento Escolar
C.P. 6446, Monterrey
Nuevo León
MÉXICO

E-mail: osvelia.rodriguezls@uanl.edu.mx



LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN Y LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Otorga la presente CONSTANCIA a

**Martínez-Delgado, Ameyalli Joceyn, Nakagoshi-Cepeda, María Argelia Akemi,
Montoya-Rosales, Alejandra, Rodríguez-Luis, Osvelia**

Por su participación con el trabajo titulado:

Actividad hemolítica de los extractos de *Illicum verum* y *Clinopodium mexicanum*

Presentado en el evento de difusión “Semana de Acción Global X ODS 2024” organizado por el Programa de Posgrado en Manejo y Aprovechamiento Integral de Recursos Bióticos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México a 23 de septiembre de 2024

Dr. Carmelo Santillán Ramos
Gerente de CSR Consulting

Dr. José Ignacio González Rojas
Director de la Facultad de Ciencias
Biológicas, UANL

Dra. Claudia T. Gallardo Rivera
Coordinadora del evento
#AcciónXODS



CONSEJO NACIONAL DE CUERPOS ACADÉMICOS EN ODONTOLOGÍA, A.C.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

OTORGA LA PRESENTE CONSTANCIA

A

Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado, María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda,
Sonia Martha López Villarreal, Gustavo Israel Martínez González, Laura Elena
Villarreal García, Alejandra Montoya Rosales, Joel Horacio Elizondo Luévano,
Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis.

Por la presentación de su trabajo:

**"REPORTE DE LA ACTIVIDAD HEMOLÍTICA DEL EXTRACTO DE CLINPODIUM
MEXICANUM: UN ENFOQUE INNOVADOR"**

Durante las actividades del

**XVII ENCUENTRO INTERNACIONAL DE CUERPOS ACADÉMICOS Y
GRUPOS DE INVESTIGACIÓN EN ODONTOLOGÍA**

celebrado del 26 al 28 de marzo del 2025

En la ciudad de Monterrey, N.L.

Dra. GUADALUPE ROSALÍA CAPETILLO HERNÁNDEZ
PRESIDENTA
CONACAO, A.C.

Dra. MARÍA ARGELIA AKEMI NAKAGOSHI CEPEDA
DIRECTORA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA, UANL

Folio CONACAO FOUANL-CA 2025-III-28 CP1813



CONSEJO NACIONAL DE CUERPOS ACADÉMICOS EN ODONTOLOGÍA, A.C.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

OTORGA LA PRESENTE RECONOCIMIENTO

DE

**TERCER LUGAR EN INVESTIGACIÓN BÁSICA
CARTEL POSGRADO**

Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado; María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda; Sonia Martha
López Villarreal; Gustavo Israel Martínez González; Laura Elena Villarreal García; Alejandra
Montoya Rosales; Joel Horacio Elizondo Luévano; Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis.

Por la presentación de su trabajo:

**"REPORTE DE LA ACTIVIDAD HEMOLÍTICA DEL EXTRACTO DE
Clinopodium mexicanum: UN ENFOQUE INNOVADOR"**

Durante las actividades del

**XVII ENCUENTRO INTERNACIONAL DE CUERPOS ACADÉMICOS Y
GRUPOS DE INVESTIGACIÓN EN ODONTOLOGÍA**

celebrado del 26 al 28 de marzo del 2025

En la ciudad de Monterrey, N.L.

Dra. GUADALUPE ROSALÍA CAPETILLO HERNÁNDEZ
PRESIDENTA
CONACAO, A.C.

Dra. MARÍA ARGELIA AKEMI NAKAGOSHI CEPEDA
DIRECTORA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA, UANL

Folio CONACAO FOUANL-CA 2025-III-28 028



Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina Veterinaria y
Zootecnia



RC-EC-004 Rev. 07-04/25

Otorgan el presente:

Reconocimiento

A:

Ameyalli Jocelyn Martinez-Delgado, Kibsaim Lázaro Franco-Villanueva, Víctor Isaac Lozano-Vielmas, María Argelia Akemi Nakagoshi-Cepeda, Sonia Martha López-Villarreal, Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis, Uziel Castillo Velázquez.

Por su valiosa participación como **PRESENTADORES del poster:**
“Evaluación bactericida, fagocítica y citotóxica del extracto de Pimpinella anisum contra Streptococcus mutans y Streptococcus sobrinus” el cual se llevó a cabo el 04 de noviembre del presente año en las instalaciones de nuestra Facultad. Este curso es avalado por CONCERVET con el folio 077/25.

“Alere Flammam Veritatis”

Gral. Escobedo, Nuevo León, 04 de noviembre del 2025.


Ph.D. Gustavo Hernández Vidal
Director





Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina Veterinaria y
Zootecnia



RC-EC-004 Rev. 07-04/25

Otorgan el presente:

Reconocimiento

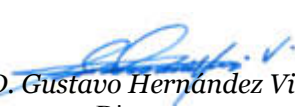
A:

Ameyalli Jocelyn Martinez-Delgado, Víctor Isaac Lozano-Vielmas, Kibsaim Lázaro Franco-Villanueva, María Argelia Akemi Nakagoshi-Cepeda, Sonia Martha López-Villarreal, Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis, Uziel Castillo Velázquez

Por su valiosa participación como **PRESENTADORES del poster:**
“Evaluación bactericida, fagocítica y citotóxica del extracto de Mentha pulegium contra Streptococcus mutans y Streptococcus sobrinus” el cual se llevó a cabo el 04 de noviembre del presente año en las instalaciones de nuestra Facultad. Este curso es avalado por CONCERVET con el folio 077/25.

“Alere Flammam Veritatis”

General Escobedo, Nuevo León, 04 de noviembre del 2025.


Ph.D. Gustavo Hernández Vidal
Director





BUAP

La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

A través de la Facultad de Estomatología
otorga la presente

CONSTANCIA

**A: Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado; Uziel Castillo Velázquez;
Sonia Martha López Villarreal; Joel Horacio Elizondo Luévano;
Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis**

POR SU VALIOSA PARTICIPACION EN EL CONCURSO DE CARTELES CON EL TEMA:
"ACTIVIDAD FAGOCÍTICA DEL EXTRACTO DE ILLICIUM VERUM CONTRA STREPTOCOCCUS MUTANS Y
STREPTOCOCCUS SOBRINUS"

En el marco del 4º. CONGRESO NACIONAL Y 2º. INTERNACIONAL DE CUERPOS ACADÉMICOS
Organizado por el Cuerpo Académico Ciencias Estomatológicas BUAP-338

Realizado los días 22 y 23 de enero de 2026
En el auditorio Julio Glockner

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a 23 de enero de 2026



Mtra. Rubí Alejandra González Manríque
Responsable de Educación Continua y Vinculación

Mtro. Floriberto Calixto Arellano
Colaborador de Educación Continua y Vinculación



BUAP

La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

A través de la Facultad de Estomatología
otorga la presente

CONSTANCIA

**A: Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado, Uziel Castillo Velázquez,
Sonia Martha López Villarreal, Joel Horacio Elizondo Luévano,
Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis**

Por haber obtenido el **PRIMER LUGAR** en el nivel POSGRADO categoría INVESTIGACIÓN BASICA con su
presentación del cartel: "ACTIVIDAD FAGOCÍTICA DEL EXTRACTO DE ILLICIUM VERUM CONTRA
STREPTOCOCCUS MUTANS Y STREPTOCOCCUS SOBRINUS."

4º. CONGRESO NACIONAL Y 2º. INTERNACIONAL DE CUERPOS ACADÉMICOS Organizado por el
Cuerpo Académico Ciencias Estomatológicas BUAP-338

Realizado los días 22 y 23 de enero de 2026
En el Auditorio Julio Glockner

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a 23 de enero de 2026



Mtra. Rubí Alejandra González Manríque
Responsable de Educación Continua y Vinculación

Mtro. Floriberto Calixto Arellano
Colaborador de Educación Continua y Vinculación