



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO MORELOS

ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIINFLAMATORIA DE
EXTRACTOS AISLADOS DE LAS PARTES AÉREAS DE *Cupressus
macrocarpa***

**TRABAJO DE DESARROLLO PROFESIONAL POR ETAPAS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN BIOLOGIA
P R E S E N T A:
ERIKA VIRIDIANA REYES SÁNCHEZ**

Director de tesis: DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ
Codirector: DR. DANTE AVILÉS MONTES

El presente trabajo se realizó en:



**Centro de Investigación en
Biodiversidad y Conservación
Laboratorio de Fitoquímica y
Productos Naturales Universidad
Autónoma del Estado de Morelos**

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez por la confianza dada, los conocimientos que me ha brindado a lo largo de todo este tiempo, por todo el tiempo académico invertido, por todas las explicaciones que con mucha paciencia me ha dado, Gracias.

Al Dr. Dante Avilés Montes por la enorme paciencia, por todas las explicaciones, por toda la ayuda con mis modelos de investigación, por ser una gran persona y un ejemplo para seguir, gracias.

A la Mtra. Isaura Quintana Padilla por ser siempre una inspiración y mi modelo para seguir, por toda la dedicación y pasión a sus clases, por todas las explicaciones y el tiempo académico invertido, por la gran persona que es, gracias.

Al Mtro. Humberto Flores Bustamante por llenarme de curiosidad con sus clases, por todo el conocimiento que me brindo, por mostrarme lo maravillosa que es la carrera, por siempre escuchar mis dudas y opiniones, gracias.

A todos mis sinodales: Mtro. Humberto Flores Bustamante, Dr. Manases González Cortázar y la Dra. Ma. Dolores Pérez García, Mtra. Isaura Quintana Padilla, por sus consejos, observaciones, por acompañarme a lo largo de estos tres semestres, porque sin ustedes nada de esto sería posible, gracias.

A todos mis maestros que siempre impartieron sus clases con dedicación, que te transmitían esa pasión por sus clases, que dejaron huella en mí, por los consejos y todos los conocimientos que me brindaron, gracias.

Al biólogo Ernesto por ayudarme en mis pruebas microbiológicas, por dejarme hacer uso de sus instalaciones, por todas las explicaciones y toda la paciencia brindada, gracias.

A mis compañeros del CIByC por todo el apoyo brindado durante toda mi instancia, gracias.

A mis compañeros de clase y grandes amigos: Julissa Rendón Martines, Valeria Vázquez Paulino, Osmara Olivan Ordoñez por todo el apoyo que me han dado, por el tiempo que hemos compartido y el aprecio que me han dado, gracias.

A la Escuela de Estudios Superiores del Jicarero, por permitirme formarme como bióloga.

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por ser una importante institución en la formación de académicos e investigadores.

AI CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN, por ser parte de mi formación académica, por permitirme realizar mi trabajo de investigación y hacer uso de sus instalaciones.

DEDICATORIA

A mi mamá que a pesar de ya no estar con nosotros siempre hizo hasta lo imposible por apoyarme, por la gran mujer que fue, por todo su esfuerzo, por sus consejos y la forma en que me enseñó a vivir, por educarme con tanto amor e inculcarme valores, por hacer de mí siempre una mejor persona, porque jamás te rendiste conmigo e intentaste darme todo, por darme momentos tan valiosos llenos de alegría, porque a pesar de que no me comprendías siempre intentabas entenderme, porque gracias a ella todo esto es posible, te amo donde sea que estes.

A mi papá por apoyarme cuando más lo he necesitado, por todo su esfuerzo, por la dedicación y el tiempo valioso que hemos compartido, por nunca dejarme sola y siempre preocuparse por mí, por siempre tenerme paciencia, por inculcarme tan valiosos valores y enseñarme con respeto y amor, por siempre mostrarme como ser más fuerte y hacerme saber que siempre puedo contar con tu apoyo, gracias por estar siempre conmigo, te amo.

A Miguel Ángel Esteban Zetina por enseñarme lo fuerte que puedo ser, por demostrarme que existen muchas formas de dar cariño, por creer en mí más que nadie y mostrarme que a veces solo necesitamos hablar para sentir la vida un poquito más ligera, gracias por tu apoyo, amor y constancia, siempre estarás en mi corazón.

Tabla de contenido

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES	2
2.1	Infecciones	2
2.1.1	Etiología	2
2.1.2	Enfermedades infecciosas de interés	2
2.1.3	Tolerancia microbiana	3
2.1.4	Resistencia	3
2.2	Microorganismos de estudio	4
2.2.1	<i>Escherichia coli</i>	4
2.2.1.1	Síntomas	4
2.2.1.2	Tratamiento	4
2.2.1.3	Resistencia a antibióticos	5
2.2.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	5
2.2.2.1	Síntomas	5
2.2.2.2	Tratamiento	5
2.2.2.3	Resistencia a antibióticos	5
2.2.3	<i>Candida albicans</i>	6
2.2.3.1	Síntomas	6
2.2.3.2	Tratamiento	6
2.2.3.3	Resistencia a antibióticos	7
2.3	Inflamación	7
2.3.1	Clasificación	7
2.3.1.1	Clasificación por tiempo de duración	7
2.3.1.1.1	Inflamación aguda	7
2.3.1.1.2	Inflamación crónica	8
2.3.1.2	Clasificación por carácter del exudado	8
2.3.1.2.1	Trasudado	8
2.3.1.2.2	Exudado	8
2.3.1.3	Clasificación por la etiología	8
2.3.1.3.1	Infecciosas	8

2.3.1.3.2	Traumáticas	8
2.3.1.3.3	Térmicas	8
2.3.1.3.4	Por exposición	9
2.3.1.3.5	Presencia de cuerpos extraños	9
2.3.1.3.6	Inmunitarias	9
2.3.1.4	Clasificación por la localización	9
2.3.1.4.1	Focales	9
2.3.1.4.2	Diseminados	9
2.3.1.5	Clasificación por sus características morfológicas	9
2.3.1.5.1	Serosa	9
2.3.1.5.2	Fibrinosa	9
2.3.1.5.3	Supurativa	9
2.3.1.5.4	Abscesos	10
2.3.1.5.5	Úlceras	10
2.3.2	Signos clínicos	10
2.3.3	Tratamiento	10
2.3.3.1	AINEs	10
2.3.3.2	Corticoides	10
2.4	Antecedentes de la planta a estudiar	11
2.4.1	Género <i>Cupressus</i>	11
2.4.2.	<i>Cupressus macrocarpa</i>	12
2.4.2.1.	Otros nombres de <i>Cupressus macrocarpa</i>	12
2.4.2.2.	Clasificación taxonómica	12
2.4.2.3.	Descripción de la planta	12
2.4.2.4.	Distribución geográfica	13
2.4.2.5.	Usos populares	13
2.4.3.	Antecedentes farmacológicos	13
2.4.3.1.	Antecedentes de la planta utilizada como antimicrobiana	15
2.4.3.2	Antecedentes de la planta utilizada como antiinflamatoria	18
2.4.4	Compuestos aislados	20
2.4.4.1	Compuestos aislados con actividad antiinflamatoria	20

2.4.4.2	Compuestos aislados con actividad antimicrobiana	20
3.	DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	21
4.	JUSTIFICACIÓN	21
5.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	22
6.	HIPÓTESIS	23
7.	OBJETIVOS	23
8.	METODOLOGÍA	23
8.1	Consideraciones generales	23
8.2	Obtención del material biológico	24
8.3	Obtención de los extractos de <i>n</i> -hexano, diclorometano y metanol de <i>Cupressus macrocarpa</i>	24
8.4	Cromatografía en capa fina	25
8.6	Microorganismos	29
8.7	Fármacos de referencia	30
8.8	Medios de cultivo	30
8.9	Preparación del inóculo.	31
8.10	Método modificado de difusión en pozos de agar	31
8.11	Animales de experimentación	31
8.12	Modelo de inflamación aguda en ratones con TPA	32
8.13	Análisis estadísticos	33
9.	RESULTADOS	35
9.1	Rendimientos	35
9.2	Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto CmEM	35
9.3	Actividad antiinflamatoria	37
9.4	Análisis de HPLC	38
10.	DISCUSIÓN	42
11.	CONCLUSIÓN	45
12.	REFERENCIAS	46

Índice de tablas

Tabla 1. Antecedentes farmacológicos de <i>Cupressus macrocarpa</i>	14
Tabla 2. Antecedentes en medicina tradicional de <i>Cupressus macrocarpa</i>	14
Tabla 3. Compuestos identificados con actividad antimicrobiana	16
Tabla 4. Compuestos identificados como antiinflamatorios.....	19
Tabla 5. Rendimientos de los extractos de <i>Cupressus macrocarpa</i>	35
Tabla 6. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto CmEM	37
Tabla 7. Actividad antiinflamatoria de extractos aislados de <i>Cupressus macrocarpa</i> en edema auricular de ratón inducido por TPA.....	37

Índice de figuras

Figura 1. Poda del material vegetal.....	24
Figura 2. Molienda del material vegetal.....	25
Figura 3. Maceración del material vegetal	25
Figura 4. Destilación del extracto	25
Figura 5. CmEH, 80:20 <i>n</i> -hexano:acetona LUV onda larga	27
Figura 6. CmEH, 80:20 <i>n</i> -hexano:acetona. LUV onda corta	27
Figura 7. CmEH, 80:20 <i>n</i> -hexano: acetona. Revelado con komarovsky.....	27
Figura 8. CmEH, 80:20 <i>n</i> -hexano:acetona. Revelado con NP-PEG	27
Figura 9. CmEH, 80:20 <i>n</i> -hexano: acetona, LUV onda larga.....	27
Figura 10. CmEH, 80:20 <i>n</i> -hexano: acetona, LUV onda corta.....	27
Figura 11. CmEH, 80:20 <i>n</i> -hexano: acetona.Revelado con sulfato cérico.....	27
Figura 12. CmED, 95:5 diclorometano-metanol, LUV onda larga.....	27
Figura 13. CmED, 95:5 diclorometano-metanol, LUV onda corta.....	27
Figura 14. CmED, 95:5 diclorometano-metanol. Revelado con komarovsky.....	27
Figura 15. CmED, 95:5 diclorometano-metanol. Revelado con NP-PEG	27
Figura 16. CmED, 95:5 diclorometano-metanol, LUV onda larga.....	28
Figura 17. CmED, 95:5 diclorometano-metanol, LUV onda corta.....	28
Figura 18. CmED, 95:5 diclorometano-metanol. Revelado con sulfato cérico.	28
Figura 19. CmED, 90:10 diclorometano-metanol, LUV onda larga.....	28
Figura 20. CmED, 90:10 diclorometano-metanol, LUV onda corta.....	28
Figura 21. CmED, 90:10 diclorometano-metanol. Revelado con NP-PEG LUV onda larga.....	28
Figura 22. CmEM, 70:30 diclorometano-metanol, LUV onda larga	29
Figura 23. CmEM, 70:30 diclorometano-metanol, LUV onda corta	29
Figura 24. CmEM, 70-30 diclorometano/metanol. Revelado con komarovsky	29
Figura 25. CmEM, 70-30 diclorometano/metanol. Revelado con NP-PEG.....	29
Figura 26. CmEM, 5-5 agua/acetonitrilo, LUV onda larga.....	29
Figura 27. CmEM, 5-5 agua/acetonitrilo, LUV onda corta.....	29
Figura 28. CmEM, 5-5 agua/acetonitrilo. Revelado con Komarovsky	29
Figura 29. CmEM, 5-5 agua/acetonitrilo. Revelado con NP-PEG	29
Figura 30. Activación de la enterobacteria gramnegativa <i>E. coli</i>	30
Figura 31. Activación de la bacteria grampositiva <i>S. aureus</i>	30
Figura 32. Activación de la levadura <i>C. albicans</i>	30
Figura 33. Grupo CmED	32
Figura 34. Grupo control positivo	32
Figura 35. Agrupación de los animales.	33
Figura 36. Aplicación del TPA	33
Figura 37. Aplicación de indometacina.....	33
Figura 38. Aplicación de los tratamientos.	33
Figura 39. se muestran las secciones circulares tomadas	33
Figura 40. Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto CmEM contra <i>E. coli</i> mediante el método de difusión en posos de agar.....	36

Figura 41. Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto CmEM contra <i>S. aureus</i> mediante el método de difusión en posos de agar.	36
Figura 42. Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto CmEM contra <i>C. albicans</i> mediante el método de difusión en posos de agar.	36
Figura 43. Cromatograma de HPLC correspondientes al extracto de metanol de hojas de <i>Cupressus macrocarpa</i> (CmEM). Mostrando la presencia de compuestos como iridoide glicosilado (pico A), galatos, compuestos derivados del ácido gálico (pico B), apigenina picos C).....	39
Figura 44. Iridoide Glicosilado (Pico A).....	39
Figura 45. galatos, compuestos derivados del ácido gálico (Pico B).....	40
Figura 46. galatos, compuestos derivados del ácido gálico (Pico B).....	40
Figura 47. galatos, compuestos derivados del ácido gálico (pico B).....	40
Figura 48. apigenina (Pico C).....	41

RESUMEN

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana y antiinflamatoria de tres extractos aislados de *Cupressus macrocarpa*. El extracto que presentó una mayor inhibición del edema en oreja de ratón inducido por 13 acetato de 12-O-tetradecanoilforbol, fue el de metanol (CmEM), con un porcentaje de inhibición del edema del 69.24%, comparado con el control positivo la indometacina que inhibió el edema en un 65.91.%. La cromatografía en capa fina revelo la presencia de flavonoides en este extracto de mayor actividad antiinflamatoria. Un análisis de HPLC reveló la presencia del flavonoide apigenina, en el CmEM.

1. INTRODUCCIÓN

Se ha mencionado, a través de la organización mundial de la salud (OMS), que las infecciones causadas por microorganismos, principalmente bacterias, son de los problemas más relevantes a nivel mundial (secretaría de Salud, 2018), ya que se ha demostrado que agentes infecciosos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* han desarrollado resistencia a los antibióticos betalactámicos como la ampicilina (Sánchez et al., 2008) y la meticilina (Cervantes, E. et al., 2014) respectivamente. *Staphylococcus aureus* forma parte de la flora microbiana de la piel y mucosas, siendo esta su área colonizada en humanos, la cual frecuentemente pueden desencadenar una infección (Albert Pahissa, 2009) debido al rompimiento de la barrera mecánica que ofrece la piel y las mucosas, esta ruptura puede ser ocasionada por traumatismos o cirugías, la liberación de toxinas en la piel y otros órganos puede causar diversos tipos de exantemas cutáneos y síntomas generales, como el caso de Síndrome de shock tóxico (SST) o enfermedad diarreica aguda (Cervantes, E. et al., 2014). Por otra parte, *Escherichia coli* es una bacteria que forma parte del microbiota del tracto gastrointestinal, la cual es causante de diarrea no sanguinolenta hasta una colitis hemorrágica (CH), con el síndrome urémico hemolítico (SUH) o la púrpura trombocitopénica trombótica como complicaciones más habituales (Sánchez, S. et al., 2010). Otro de los microorganismos causantes de infecciones como la candidiasis es la levadura *Candida albicans* (Sudbery, 2011) la cual genera lesiones mucocutáneas, fungemia y, en ocasiones, infecciones localizadas en múltiples sitios, los síntomas dependen de la localización de la infección e incluyen disfagia, lesiones cutáneas y mucosas, ceguera, síntomas vaginales (prurito, ardor, flujo), fiebre, shock, oliguria, insuficiencia renal y coagulación intravascular diseminada (Sanjay G., 2019). Una de las problemáticas subsecuentes es la repercusión económica que generan, puesto que elevan los índices de morbilidad y mortalidad, así como los costos hospitalarios, ya que estas bacterias también constituyen las principales infecciones posoperatorias (Fernández, Z. & López, O. & Fariñas, A., 2016). La inflamación es un proceso biológico complejo que sucede como respuesta a una enfermedad patológica, incluso algunas enfermedades neurodegenerativas han sido relacionadas a la inflamación. El tratamiento más prescrito para estas afecciones son los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), sin embargo, se han asociado lesiones

gastrointestinales al uso prolongado de los mismos (Al-sayed et al., 2017). De tal forma que, la medicina tradicional está ganando popularidad entre los consumidores, gracias a que cuentan con gran potencial farmacológico (Al-sayed et al., 2017) como antibacteriano, antifúngico, antiviral, antiparasitario, antioxidante, estrogénico, anticoagulante, antiinflamatorio e insecticida (Harraz et al., 2018). El género *Cupressus* es rico en metabolitos secundarios como flavonoides, taninos, saponinas, fenólicos, terpenos y aceites esenciales (Harraz et al., 2018), por lo cual, el objetivo del presente trabajo es evaluar la actividad antiinflamatoria en modelos *in vivo* y la actividad antimicrobiana en modelos *in vitro* de extractos, obtenidos a partir de *Cupressus macrocarpa*.

2. ANTECEDENTES

2.1 Infecciones

2.1.1 Etiología

Las enfermedades infecciosas son generadas por agentes invasores o microorganismos patógenos que invaden el sistema de los organismos y se multiplican en él, las enfermedades infecciosas representan la segunda causa de mortalidad (14,9 millones de muertes) y causan el doble de muertes que el cáncer (7,1 millones de muertes) (datos del *World Health Organization*, WHO, 2002 como se citó en I. Lasa, et al., 2005). La transmisión de esta se va a ver determinada por distintos factores de los hospedadores y de los microorganismos, en el caso de los hospedadores va a influir la edad en la que se encuentren, sus hábitos o la dinámica que tienen para relacionarse en grupos, los principales factores referente a microorganismos van a ser los factores de virulencia, el metabolismo que estos tengan, así como su composición química o las estructuras con las que cuentan (López, I. & García, C. & López, N., 2013).

2.1.2 Enfermedades infecciosas de interés

Candida albicans (candidiasis), *Escherichia coli* (diarrea hemorrágica), *Pseudomonas aeruginosa* (otitis, endocarditis bacteriana, infecciones de vías urinarias, infecciones de herida quirúrgica en pacientes postoperados, neumonía) y *Staphylococcus aureus* (infecciones tópicas, neumonía, endocarditis y osteomielitis) (Martínez Abreu, Judit, 2014)., *Acinetobacter baumannii* (epticemias, neumonías, infecciones del tracto urinario, meningitis y endocarditis), *Morganella morganii* (infecciones urinarias y otras

infecciones nosocomiales), *Enterococcus faecium* (endocarditis, infecciones urinarias, intraabdominales, prostatitis), *Klebsiella* (infecciones en vías urinarias y aparato respiratorio) (García Palomo, J. D., Agüero Balbín, J., Parra Blanco, J. A., & Santos Benito, M. F., 2010).

2.1.2.1 Infecciones fúngicas

Las infecciones por hongos son denominadas “micosis”, generalmente estos hongos son levaduriformes, las infecciones más comunes llegan a ser las cutáneas y/o las de las mucosas, esta infección se debe a que el hongo invade el tejido sano del paciente y este le proporciona un medio favorable en cuanto a todos sus requerimientos para crecer, desarrollarse y reproducirse (Crespo, V. & Martínez, F. & Moreno, J. & Rocha, A , 2005).

2.1.3 Tolerancia microbiana

Se refiere a cuando un microorganismo se deja inhibir en su crecimiento, pero no llega a ser eliminado, en concentraciones que se logran en fluidos. Esta propiedad está presente en estafilococo, estreptococo, enterococo y varía la manifestación, es decir, puede estar en un menor o mayor grado. En betalactámicos, la tolerancia se puede manifestar en ciertos géneros, pero no en todas las especies del mismo género. Esta tolerancia se puede llegar a contrarrestar mediante la interacción resultante a la combinación de dos antimicrobianos (Fica, A. 2005).

2.1.4 Resistencia

La resistencia está determinada por un panel que analiza la información que se encuentra disponible sobre los antibióticos que se van a aplicar a una determinada cepa, por ejemplo, si elimina a los microorganismos por presencia o por la continuidad, si se encuentra en una concentración alta o una concentración baja, el crecimiento mínimo inhibitorio frente al microorganismo de interés. (García, J. A. Cantón, R. García, J. E. Gómez, M. L. Martínez, L. & Vila, J., 2000). La baja actividad no sigue resistencia, así como tampoco significa eficacia, debido a que la eficacia clínica se manifiesta con la mejoría o el fallecimiento del paciente. (García, J. A. Cantón, R. García, J. E. Gómez, M. L. Martínez, L. & Vila, J., 2001).

2.2 Microorganismos de estudio

2.2.1 *Escherichia coli*

Es una bacteria gramnegativa, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, es anaerobia facultativa (puede obtener energía en ausencia de oxígeno), es mesófila (la temperatura óptima para desarrollarse es entre 25 y 40°C), no es esporulante (no forma esporas), forma parte de la microbiota normal del tracto intestinal, por lo tanto, se considera un microorganismo de la flora normal, sin embargo, existen cepas que llegan a ser patógenas para el ser humano, produciendo diferentes cuadros clínicos (Galván, Fiorela, Agapito, Juan, Bravo, Nora, Lagos, José, & Tamariz, Jesús., 2016). Existen seis grupos de *E. coli* productora de diarrea: enterotoxigénica (ETEC), enterohemorrágica (EHEC) (Lara, J. Ferreira, R. & de Oliveira, M., 2016), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y de adherencia difusa (DAEC) (esta clasificación está hecha con base en su mecanismo de patogenicidad y cuadro clínico). Esta bacteria es la principal causante de la diarrea, síndrome urémico hemolítico, colitis hemorrágica y cuadros de disentería (principalmente en niños) (Rodríguez-Angeles G., 2002).

2.2.1.1 Síntomas

Los síntomas generalmente son: diarrea (dependiendo la cepa puede ser acuosa, con presencia de sangre, moco o pus) (Rosa, J. & Barros, R. & Santos, M., 2016), fiebre, malestar estomacal, además en algunos casos se puede llegar a presentar náuseas y/o vomito. La infección está determinada por ciertos factores como: la inmunidad de la mucosa a la infección por *E. coli*, la cual se desarrolla en individuos expuestos; incluso individuos inmunes asintomáticos pueden arrojar un gran número de organismos virulentos en heces; y la infección requiere una invasión y multiplicación alta (JAMES P. NATARO & JAMES B. KAPER, 1998).

2.2.1.2 Tratamiento

El tratamiento es la prescripción de antibióticos o antimicrobianos como: fosfomicina, betalactámicos cefixima, cefuroxima y amoxicilina-clavulánico (Sánchez, J. M. et al., 2003).

2.2.1.3 Resistencia a antibióticos

La resistencia que *E. coli* ha generado en los últimos años incluyen los siguientes antibióticos: fosfomicina, tobramicina, cefuroxima, amoxicilina-clavulánico, ciprofloxacino, norfloxacino y ampicilina (Sánchez, J. et al., 2008).

2.2.2 *Staphylococcus aureus*

La especie *Staphylococcus aureus* está formado por cocos que se agrupan en racimos, es grampositivo, no es móvil, no es esporulante, no posee una cápsula (aunque algunas cepas pueden llegar a desarrollar una cápsula de limo), es anaerobia facultativa (puede desarrollarse sin presencia de oxígeno). Se pueden diferenciar de los *Streptococcus* y *Enterococcus* debido a que el género *Staphylococcus* produce catalasa, a diferencia de los otros dos géneros que producen catalasa negativa (García, E. & González, R. & Schettino, P., 2014). Son los principales causantes de infecciones cutáneas y de tejidos blandos hasta infecciones graves, además de generar infecciones nosocomiales (infección que aparece durante la estancia hospitalaria) (Flores, R. & Rosado, U. & Valerio, A. & Muñiz, C., 2016).

2.2.2.1 Síntomas

Dependiendo del área donde llegue a colonizar esta especie los síntomas van a ser distintos, pero de forma general la liberación de toxinas en la piel y otros órganos puede causar diversos tipos de exantemas cutáneos y síntomas generales, como el caso de las EDAS o enfermedad diarreica aguda (Cervantes, E. et al., 2014), en el caso de la infección cutánea los síntomas pueden incluir: coloración, hinchazón o dolor, sensación de calor, estar llena de pus u otra secreción (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades, s.f).

2.2.2.2 Tratamiento

El tratamiento puede incluir el drenado de la infección hasta la prescripción de antibióticos como la metilina, clindamicina, cotrimoxazol, daptomicina, entre otros (Llinares, P., Barberán, J., Montejo, M., Salavert, M., Alvarez-Rocha, L., Maseda, E., ... & Picazo11, J., 2013).

2.2.2.3 Resistencia a antibióticos

El impacto de las cepas de *S. aureus* sobre la salud es la resistencia que puede presentar a múltiples antibióticos, sobre todo a la metilina (Cervantes, E. et al., 2014).

2.2.3 *Candida albicans*

La especie es un hongo dimórfico, es decir, si se presentan las condiciones puede llegar a cambiar de levadura a un hongo filamentoso. Normalmente se comporta como levadura en una temperatura de 37°C siempre y cuando tenga un huésped, pero se llega a comportar como hongo filamentoso a una temperatura 25°C en la naturaleza. Se reproduce de manera asexual (gemación). En su forma filamentosa las células se alargan formando pseudohifas y en su forma levaduriforme las células son redondas u ovaladas agrupadas en pequeños grupos. Cuando se encuentra en su forma levaduriforme se comporta saprofita llegando a convivir con su huésped, es decir, forma una simbiosis, pero en su forma filamentosa se comporta como parásito patógeno llegando a producir síntomas al huésped. Las infecciones por *Candida* llegan a afectar distintas áreas del organismo, como cavidad oral (candidiasis oral), esófago (esofagitis por cándida), área genital en mujeres (vaginitis), infecciones cutáneas incluso puede llegar a invadir el líquido hemático (Revankar, S., 2019). Las infecciones micóticas producidas por *Candida albicans*, son complicaciones importantes en los pacientes inmunosuprimidos (Panizo, M. M. & Reviákina, V., 2001).

2.2.3.1 Síntomas

Los síntomas varían en cada colonia, pero los síntomas más comunes de las infecciones cutáneas incluyen la inflamación de la zona, coloración de la zona afectada como uñas, piel, cabello cuero cabelludo, erupciones, vesícula-ampollosa súbita en los pies o la lesión inflamatoria edematosa del cuero cabelludo, comezón, etc. (Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo, 2012). En el caso de las mucosas se presenta una secreción anormal desde el olor hasta la coloración de este, ardor, comezón, dolor, entre otros síntomas.

2.2.3.2 Tratamiento

El tratamiento puede incluir la administración de antimicrobianos como anfotericina b, ketoconazol, fluconazol, nistatina y clotrimazol o antimicótico los cuales pueden variar su presentación (ungüento, comprimido, pomadas), pero incluyen miconazol y terconazol (Pachón, J. et al., 2006).

2.2.3.3 Resistencia a antibióticos

La resistencia de *Candida sp.* representa un reto terapéutico que deja un menor número de posibilidades para el tratamiento de estas infecciones que se caracterizan, a su vez, por una alta morbimortalidad (Gómez, C., 2010), una de las principales resistencias es hacia el medicamento fluconazol (Quintero, C. (2010, agosto).

2.3 Inflamación

Como ya se mencionó anteriormente dentro de los principales síntomas y signos de una infección se encuentra el enrojecimiento, dolor e inflamación, aunque la inflamación no siempre es causada por infecciones, o incluso puede persistir después de una infección mal tratada, provocando una inflamación crónica (González Naranjo, Luis Alonso, & Molina Restrepo, José Fernando., 2010). La inflamación es un proceso biológico complejo el cual ocurre como respuesta del sistema inmunológico a desencadenantes patológicos, también la inflamación se ha asociado a enfermedades neurodegenerativas, incluso se ha asociado al cáncer (García, A., s. f.). Este proceso puede estar acompañado de dolor, coloración en la zona afectada, así como sensación de calor, los cuales son producidos gracias al incremento del flujo sanguíneo (García de Lorenzo Y Mateos, J. López Martínez & M. Sánchez Castilla, 2000).

2.3.1 Clasificación

La clasificación de la inflamación se realiza tomando en cuenta el tiempo de duración, carácter del exudado, etiología, características morfológicas y localización (Villalba Herrera Ericka Wendie, 2014).

2.3.1.1 Clasificación por tiempo de duración

2.3.1.1.1 Inflamación aguda

Es una respuesta que ocurre de manera rápida ante algún agresor o patógeno, este proceso ayuda al organismo a liberar mediadores de defensa como lo son los leucocitos o las proteínas plasmáticas. Esta va a contar con tres componentes mayores: alteraciones en el calibre vascular que dan lugar a un aumento en el flujo sanguíneo, cambios estructurales en la microvasculatura que permiten que las proteínas plasmáticas y los leucocitos abandonen la circulación y migración de los leucocitos desde la microcirculación, su acumulación en el foco de la lesión, y su activación para eliminar el agente ofensor. Todas estas alteraciones son los que producen los signos clínicos (Nogales, F., 2006).

2.3.1.1.2 Inflamación crónica

Generalmente la inflamación crónica es producida debido a enfermedades autoinmunes, aunque también se pueden producir debido a una infección que no fue tratada debidamente o que aún no ha terminado, incluso por estados como la obesidad. Se llega a desencadenar todo este proceso aun cuando no exista una lesión además de que no finaliza en el tiempo establecido. En la mayoría de los casos la inflamación crónica ocurre debido a que el sistema inmunológico no puede diferenciar las células propias del organismo de los patógenos, por lo tanto, ataca a los tejidos sanos del individuo. Si la inflamación no es tratada adecuadamente puede llegar a afectar gravemente a las células de modo que se dañe el material genético (Jang, M. H, et al., 2003).

2.3.1.2 Clasificación por carácter del exudado

2.3.1.2.1 Trasudado

Está caracterizado por la presencia de líquido extracelular o extravascular que cuenta con un bajo contenido de proteínas, esto gracias a que cambia la permeabilidad de los vasos sanguíneos (Villalba Herrera, E. W., 2014).

2.3.1.2.2 Exudado

Se caracteriza por la presencia de líquido extracelular o extravascular, pero este va a ser de carácter inflamatorio el cual va a tener un contenido alto en proteínas, esto debido el aumento de la permeabilidad vascular (Villalba Herrera, E. W., 2014).

2.3.1.3 Clasificación por la etiología

2.3.1.3.1 Infecciosas

Esta inflamación ocurre debido a la presencia de agentes patógenos como: virus, bacterias, parásitos e incluso por la presencia de toxinas de estos patógenos (Villalba Herrera, E. W., 2014).

2.3.1.3.2 Traumáticas

Es ocasionada debido a golpes bastante intensos los cuales pueden tener una respuesta inmediata o tardía (Villalba Herrera, E. W., 2014).

2.3.1.3.3 Térmicas

Estas resultan de las quemaduras que pueden ser provocadas tanto por calor como por congelamiento o frío (Villalba Herrera, E. W., 2014).

2.3.1.3.4 Por exposición

Puede ocurrir debido a la exposición a contaminantes o agentes químicos ambientales (Villalba Herrera, E. W., 2014).

2.3.1.3.5 Presencia de cuerpos extraños

Son ocasionados por cuerpos extraños que lesionan la piel y generalmente quedan atrapados dentro de ella, un ejemplo de esto son las astillas (Villalba Herrera, E. W., 2014).

2.3.1.3.6 Inmunitarias

Son ocasionadas debido a que el sistema inmune no puede reconocer las células propias del organismo con las que son externas a él, aquí también entran todas las reacciones de hipersensibilidad, esto puede ser ocasionado debido a la presencia de alérgenos comunes o procesos colagenopáticos (Wendie, V. H. E., 2004).

2.3.1.4 Clasificación por la localización

2.3.1.4.1 Focales

Para este tipo de inflamaciones se utiliza el sufijo “itis” y son producidas en tejidos, órganos o alguna zona específica (Wendie, V. H. E., 2004).

2.3.1.4.2 Diseminados

Es el resultado de una propagación de la inflamación que ya es denominada persistente, generalmente ocurre en vía canalicular, fistulización o metástasis (Wendie, V. H. E., 2004).

2.3.1.5 Clasificación por sus características morfológicas

2.3.1.5.1 Serosa

Ocurre debido a una acumulación de líquido intersticial el cual va a contar con un contenido bajo en proteínas (Wendie, V. H. E., 2004).

2.3.1.5.2 Fibrinosa

Este tipo de inflamación va a contar con la presencia de pus y altas cantidades de una proteína soluble del plasma sanguíneo denominado fibrinógeno (Wendie, V. H. E., 2004).

2.3.1.5.3 Supurativa

Está caracterizado por una producción de pus el cual básicamente consta de leucocitos y células necróticas (Wendie, V. H. E., 2004).

2.3.1.5.4 Abscesos

El tejido inflamatorio va a presentar pus el cual ya va a estar acompañado de una necrosis licuefactiva (Wendie, V. H. E., 2004).

2.3.1.5.5 Úlceras

Este se produce cuando el tejido necrótico se inflama debido al esfacelamiento (Wendie, V. H. E., 2004).

2.3.2 Signos clínicos

- Calor: o aumento local de la temperatura secundario a vasodilatación, y aumento de consumo local de oxígeno.
- Rubor: producido por el aumento de irrigación en la zona afectada, por incremento del flujo sanguíneo.
- Dolor: provocado por distensión de los tejidos y liberación de prostaglandinas como mediadores químicos.
- Edema: resultante del aumento de la permeabilidad capilar y consiguiente sufusión de líquido en el tejido intersticial (Villalba Herrera Ericka Wendie, 2014).

2.3.3 Tratamiento

2.3.3.1 AINEs

El tratamiento más prescrito para la inflamación son los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), sin embargo, el uso prolongado de los AINE puede ocasionar enfermedades gastrointestinales, algunas con complicaciones serias que pueden atentar la vida del paciente, las lesiones por AINE producen en Estados Unidos más de 70.000 hospitalizaciones y 70 muertes al año (Domingo, D., 2002).

2.3.3.2 Corticoides

Son hormonas del grupo de los esteroides los cuales se utilizan como drogas en diversas situaciones clínicas, esto debido a que los corticoides sistémicos son potentes antiinflamatorios e inmunosupresores, sin embargo, durante su uso deben monitorearse la glucemia, el lipidograma, los electrolitos séricos, el peso, la tensión arterial, la temperatura corporal, la visión y la densidad ósea puesto que puede llegar a producir alteraciones. La administración de los corticoides puede ser tópica, vía intravenosa o intramuscular, oral e intralesional (Botargues M, Enz P, Musso C, 2011).

2.4 Antecedentes de la planta a estudiar

En estudios anteriores, tanto el género *Cupressus* como la especie *C. macrocarpa*, demostraron tener una extensa actividad biológica dentro de las que más destaca la actividad antiinflamatoria y antimicrobiana, por esos motivos es importante conocer los antecedentes del género y la especie.

2.4.1 Género *Cupressus*

El género *Cupressus* es clasificado como una conífera, los cuales son árboles o arbustos con hojas simples y estructuras fértiles arregladas en conos polínicos simples y conos ovulados compuestos, las ramas laterales están bien desarrolladas. Las hojas son simples y pueden ser en forma de aguja, escama, lineares, lanceoladas, a veces oblongas o falcadas (Gernandt, David S., & Pérez-de la Rosa, Jorge A., 2014). Por lo general, las hojas son persistentes por más de un año, pero a veces son deciduas. Su madera posee un xilema compacto compuesto principalmente de traqueidas con paredes gruesas y poros uniseriados o multiseriados. En contraste con angiospermas, el xilema carece de vasos. Frecuentemente presentan canales resiníferos en su madera, la corteza, las hojas o los conos. Los conos o estróbilos masculinos solitarios del género *Cupressus*, terminales o axilares, pequeños formados por escamas, cada una con 2 a 6 sacos polínicos en la parte abaxial (Palli, G., 2011). Los conos o estróbilos femeninos, globosos, de 3 a 8 escamas con 1 o 2 óvulos cada una dehiscentes o indehiscentes (Laura White Olascoaga, 2016). Los estróbilos o conos son monoesporangiados. la familia *Cupressaceae* está formada por 4 géneros y 29 especies (David S. Gernandt y Jorge A. Pérez-de la Rosa, 2014), aunque Sergio Zamudio y Eleazar Carranza (1994) exponen que la Familia de amplia repartición mundial, cuenta con alrededor de 16 géneros y unas 120 a 150 especies, distribuidas principalmente en las regiones templadas de ambos hemisferios. Algunas variedades de especies ampliamente cultivadas como *Cupressus sempervirens L.* y *Thuja orientalis L.* se encuentran con frecuencia en jardines y casas de la región de estudio, en donde sólo se localizan de forma natural los siguientes dos géneros (Atalaya, Y. & Mantilla, D, 2017). Específicamente *Cupressus* está conformado por Árboles altos, de 15 a 30 m, tallo recto (monopódico); conos femeninos maduros coriáceos o leñosos, dehiscentes; semillas comprimidas, aladas. El número de especies reconocidas dentro de este género varía debido a que la mayoría de las poblaciones son pequeñas y aisladas,

distinguidas por pequeñas diferencias, que han sido interpretadas por algunos autores como especies, pero para otros solamente como variedades o subespecies. Posteriormente Little (2006) (como se citó en Bendímez Salinas, S., 2007) utilizando datos de genética molecular además de los datos morfológicos y químicos, encontró que muchas de las poblaciones aisladas son suficientemente distintas para considerarlas como especies discretas e incluso propone dividir *Cupressus* en especies del nuevo mundo y especies del viejo mundo. A las primeras, relacionadas más cercanamente con *Juniperus*, les asigna el nombre de *Callitropsis Oersted* (junto con dos especies de *Xanthocyparis*), mientras que las del viejo mundo permanecen como *Cupressus L.*

2.4.2. *Cupressus macrocarpa*

2.4.2.1. Otros nombres de *Cupressus macrocarpa*

Ciprés de Monterrey, cedro limón, Ciprés de California, ciprés, ciprés de macrocarpa, Monterey cypress (fundación Charles Darwin, s. f.).

2.4.2.2. Clasificación taxonómica

Reino: *plantae*

División: *Pinophyta*

Clase: *Pinopsida*

Orden: *Pinales*

Familia: *Cupressaceae*

Género: *Cupressus*

Especie: *C. macrocarpa* (catálogo de la biodiversidad, s.f.)

2.4.2.3. Descripción de la planta

Crece hasta convertirse en uno de los cipreses más grandes, alcanzando 36 m de alto, con un diámetro de tronco de 2.4 m. Cuando se siembra en una arboleda forma un tronco alto y recto, pero en lugar abierto con buena tierra se ramifica desde abajo con enormes ramas extendidas formando una copa ancha y densa de un verde oscuro con una silleta más bien puntiaguda. De cerca el follaje es bastante áspero y tiene un olor algo acre cuando se estruja. Las piñas son grandes y arrugadas (Burnie et al. 2006, como se citó en catálogo de la biodiversidad, s.f.). Árbol de unos 25-30 m de altura, con ramificación ascendente, formando un ángulo de unos 45 grados con el tronco. Corteza

muy agrietada formando placas de color pardo grisáceo. Tronco ensanchado en la base y a veces dividido en dos a partir de cierta altura. Ramillas bastante gruesas, de 1.5-2 mm de grosor, sub tetrágonas. Hojas escamiformes, bastante gruesas, de ápice obtuso no punzante, de color verde oscuro (Pomacahua, G. A., 2011).

2.4.2.4. Distribución geográfica

Se distribuye en California (Estados Unidos), en altitudes que oscilan entre 60 y 915 m (Farjon, 2005, como se citó en Román, E., 2016). Esta especie crece en Norte América, República Dominicana, Puerto Rico, Bolivia, Colombia, Ecuador, Francia, Gran Bretaña e Italia (Trópicos, 2008, como se citó en catálogo de la biodiversidad, s. f.).

2.4.2.5. Usos populares

Como menciona Laura White Olascoaga (2016) su uso más popular es el ornamental, pero también se utiliza en la producción de vinos, se aprovecha su madera, y uno de los usos que están tomando mucha popularidad gracias a la medicina natural o medicina tradicional son las diversas propiedades de los aceites esenciales o su aplicación en la farmacéutica debido a la amplia bioactividad que tienen los compuestos aislados y los metabolitos secundarios de *Cupressus macrocarpa* (Minga Ochoa, Danilo Cabrera Toral, Luisana Amanda Saquipay Zhagui & Carmita Alexandra, 2014).. Social: las ramas son ramas en decocción son usadas en el baño del cinco, Medicina: las hojas en infusión se utilizan para el dolor de huesos (Cabrera, L. A. & Saquipay, C. A., 2014).

2.4.3. Antecedentes farmacológicos

Se han informado actividades antiinflamatorias, analgésicas, citotóxicas, antimicrobianas, antioxidantes, vasorrelajantes y anticoagulantes para esta clase de metabolitos secundarios (Eman Al-Sayed, Haidy A. Gad, & Mohamed El-Shazly, 2017). El baño del cinco es utilizado en especial en el posparto y para el reumatismo, con un atado variado de acuerdo con la persona que lo arme, con plantas como: ciprés (*Cupressus macrocarpa*) (Cabrera, L. A. & Saquipay, C. A., 2014). *Cupressus macrocarpa* en Canarias cuenta con propiedades o sirve para afecciones: pectorales, astringente, antirreumática, vulneraria, tóxica, en cuba: astringente, antidiarreica, pectoral (Torres, I. B. & Quintana. I. J., 2004). En Brasil *Cupressus macrocarpa* también llamado Tuia, utiliza las partes aéreas para preparar té y tratar el dolor de riñón (Bazilio Da Silva, O., Martins Rocha, D. & Da Vila Pereira N., 2020). Cesáreo Cueva Infante (2019) expone

que *Cupressus macrocarpa* es utilizada en distrito de Namora – Cajamarca para tratar Bronquitis, tos y resfrío, utilizando las partes aéreas en una infusión la cual puede ser usada como baño o tomada. A *Cupressus macrocarpa* se le atribuyen efectos citotóxicos, los principales metabolitos secundarios quimiotaxonómicos de las plantas de *Cupressus* son los lignanos, los biflavonoides, y los diterpenos. El trabajo anterior demostró que la cupressuflavona, un biflavonoide obtenido de *C. macrocarpa*, tiene una actividad hepatoprotectora contra la hepatotoxicidad (Eman Al-Sayeda, et al., 2020). ElGhorab et al. (2007) identificaron 43 componentes de las hojas frescas y secas de la *C. macrocarpa* egipcia que mostraron una notable actividad antimicrobiana y antioxidante (Saad, A. & Mohamed, M. & Ghareeb, M. & Ahmed, W. & Farid, M., 2017). Tradicionalmente, la planta ornamental del ciprés se ha utilizado como remedio, tanto en uso interno como externo, como tónico venoso en casos de várices y hemorroides. También, se ha usado por su acción balsámica respiratoria como antitusígeno y expectorante (Eduarte, J & Ramírez Y., 2016).

Tabla 1. Antecedentes farmacológicos de *Cupressus macrocarpa*

Compuesto identificado	Actividad biológica	Parte utilizada	Cita
1. cupressuflavona	1. citotóxica	hojas	Eman Al-Sayed, Haidy A. Gad, & Mohamed El-Shazly, 2017
2. cupressuflavona	2. analgésico		
3. cupressuflavona	3. antiinflamatoria		
Lignanos biflavonoides diterpenos	antiinflamatoria hepatoprotectora citotóxico	hojas	Eman Al-Sayeda, et al., 2020
monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos oxigenados, monoterpenos sesquiterpenos, diterpenos	antimicrobiana antioxidante	hojas	Saad, A. & Mohamed, M. & Ghareeb, M. & Ahmed, W. & Farid, M. (2017)

Tabla 2. Antecedentes en medicina tradicional de *Cupressus macrocarpa*

Uso en medicina tradicional	Parte utilizada	Modo de uso	Cita
-----------------------------	-----------------	-------------	------

Para tratar dolor de riñón	Hoja	Té	Bazilio Da Silva, O., Martins Rocha, D. & Da Vila Pereira N., 2020
Bronquitis, tos y resfrío	Hoja	Infusión o baño.	Cesáreo Cueva Infante (2019)
Antidiarreica, antirreumática, astringente, citotóxica, pectoral, vulneraria	Sin especificar	Sin especificar	Torres, I. B. & Quintana. I. J., 2004
Baños del cinco para posparto, reumatismo y dolor de huesos	Planta y hoja	Decocción e infusión	Minga Ochoa, Danilo Cabrera Toral, Luisana Amanda Saquipay Zhagui & Carmita Alexandra. (2014).

2.4.3.1. Antecedentes de la planta utilizada como antimicrobiana

La actividad que presentó *Cupressus macrocarpa* en *E. carotovara var. Carotovara* fue de MIC: 525 considerándose una actividad fuerte y para *A. tumefaciens* fue de MIC: 600 considerándose una actividad moderada (Mhamed E. I. Badawy & Samir A. M. Abdelgaleil, 2014). El aceite esencial separado de las hojas de *C. macrocarpa* mostró una fuerte actividad antimicrobiana contra las cepas patógenas Gram +ve y -ve, que puede atribuirse a la presencia de α -terpineol (19,01%) como componente principal, o debido al efecto sinérgico entre los constituyentes generales α -terpineol (19.01%), la canfenilona (9,78%), el elemol (8,92%), la 2-tridecanona (8,75%), el acetato de α -terpinilo (8.62%), la 2-pentil-2-ciclopenten-1-ona (6,90%) y el β -bisabolol (5,83%), por lo que podría utilizarse en el tratamiento de infecciones microbianas (Saad, A. & Mohamed, M. & Ghareeb, M. & Ahmed, W. & Farid, M., 2017). Se demuestra que los extractos de aceites esenciales pueden ser una alternativa con potenciales efectos medicinales y son candidatos para terapias con diferentes tratamientos que pretendan el manejo de los

padecimientos infecciosos, pues se han evidenciado las bondades que brindan tan solo algunos de sus muchos componentes, entre los más importantes el alfa pineno en el caso del ciprés (Eduarte, J. & Ramírez, Y., 2016). Compuestos volátiles, como cariofileno, α -terpineol, α -pineno β -pineno α -humuleno y α -cadinol, son probablemente ser los precursores de los complejos mentoles o resinas que se ha afirmado que también contienen propiedades antibacterianas y antifúngicas (Mora, J. & Ramírez, Y., 2014). El aceite esencial obtenido de esta planta y la formulación de la crema exhibieron actividad antibacteriana y antifúngica. Estas actividades pueden atribuirse a la presencia de los compuestos de mono, sesqui y diterpenos, la formulación en crema al 2% mostró una mejor actividad contra todas las cepas de hongos en comparación con las de bacterias y también mostró actividad equipotente contra el fármaco estándar, griseofulvina (S. Manimaran, S. Themozhil, MJNanjan & B. Suresh, 2007).

Tabla 3. Compuestos identificados con actividad antimicrobiana

Compuestos identificados	Microorganismos utilizados	Tipo de placa	Medida de los halos de inhibición	Cita
Alfa pineno Flavonoides	<i>Prevotella intermedia</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Peptoestreptococcus anaerobius</i> .	Placas agar sangre suplementado con vitamina k y con hemina	<i>P. intermedia</i> : 5mm (al 50% de dilución) <i>P. anaerobius</i> : 3mm (concentración del 50%) <i>F. nucleatum</i> : 1mm (concentración del 25%)	Mora, J. & Ramírez, Y., (2014)
α -terpineol, canfenilona, elemol, 2- tridecanona, α - terpinil acetato, 2-pentil-2- ciclopenten-1- ona y β - bisabolol	<i>Bacillus subtilis</i> NRRL 543, <i>Staphylococcus aureus</i> NRRLB-313, <i>Escherichia coli</i> NRRL B-210, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar papa dextrosa (PDA)	<i>F. oxysporum</i> : 17mmn (1:5, v/v), <i>A. niger</i> : 16mm n (1:5, v/v),	Saad, A. & Mohamed, M. & Ghareeb, M. & Ahmed, W. & Farid, M., (2017)

	NRRL B-23, <i>Aspergillus niger</i> NRRL 599, <i>Fusariumoxysporum</i> NRRL 28184, <i>Candida albicans</i> NRRL Y-477 y <i>Fusarium solani</i> .		<i>F. solani</i> : 15 mmn (1:5, v/v), <i>C. albicans</i> : 19 mm n (1:5, v/v), <i>E. coli</i> : 21 dilución de 1:5, <i>G-ve</i> : 15 mm dilución de 1:5, <i>B. subtilis</i> : 15mm dilución de 1:5, <i>S. aureus</i> : 20mm dilución de 1:5,	
4- terpeneol,	<i>B. cinerea</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>A. tumefaciens</i> y <i>E. carotovora var. Carotovora</i>	Se ensayó mediante el método de dilución NA e inhibición del crecimiento micelial	Inhibición moderada de <i>tumefaciens</i> y <i>E. carotovora var. Carotovora</i>	Mhamed E. I. Badawy & Samir A. M. Abdelgaleil, (2014)
terpineno-4-ol, dinopol, α -pineno y β -pineno.	<i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus</i>	agar nutritivo y medio de agar dextrosa de sabouraud (SDA) para bacterias	<i>B. coagulans</i> (NCIM No-2313): 15mm <i>B. megaterio</i> (NCIM No-2187): 17mm	S. Manimaran, S. Themozhil, MJNanjan

<i>aureus</i> ,	hongos	<i>B. subtilis</i> & <i>B.</i>
<i>Escherichia coli</i> ,	respectivamente	(NCIM No- Suresh,
<i>Kleibseilla</i> ,		2063): 14mm (2007).
<i>Pseudomonas</i>		<i>S. aureus</i>
<i>aeruginosa</i> ,		(NCIM No-
<i>Salmonella</i>		2079): 15mm
<i>typhii</i> ,		<i>E. coli</i> (NCIM
<i>Aspergillus</i>		No-2345):
<i>flavus</i> ,		14mm
<i>Candida</i>		<i>K. neumonia</i>
<i>albicans</i> ,		(NCIM No-
<i>Trichoderma</i>		2239): 11mm
<i>lignorium</i>	y	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Cryptococcus</i>		(NCIM No-
<i>neoformans</i>		2200): 12mm
		<i>S. typhii</i>
		(NCIM No-
		2080): 14mm
		<i>C. neoformans</i>
		(Obtenido de
		CMC): 17mm

2.4.3.2 Antecedentes de la planta utilizada como antiinflamatoria

Como menciona Eman Al-Sayed, Haidy A. Gad, & Mohamed El-Shazly (2017) el tratamiento con cupressuflavona mostró una reducción significativa ($p < 0,001$) dependiente de la dosis en el edema de la pata inducido por carragenina con un efecto inhibidor máximo después de 180 min de administración. Los bioflavonoides exhiben potentes efectos antiinflamatorios. Morelloflavone redujo el edema inducido por carragenina en ratones, ejerció efectos antiinflamatorios en modelos animales, con una potente inhibición de la inflamación de la oreja de ratón inducida por 12-*O*-tetradecanoilforbol 13-acetato (TPA) en ratones después de la administración tópica, también se observó un efecto antiinflamatorio significativo en el edema de carragenina de la pata de ratón después de la administración oral Morelloflavone es un inhibidor de la PLA2 secretora con selectividad para las enzimas de los grupos II y III y puede ser una herramienta farmacológica. Además, muestra actividad antiinflamatoria aparentemente no relacionada con la síntesis de eicosanoides (Gil et al., 1997), Cuando se administró

amentoflavona por vía intraperitoneal, mostró una potente actividad antiinflamatoria determinada por la mejora del edema de oreja de ratón inducido por aceite de croton, por lo tanto la amentoflavona demostró un efecto antiinflamatorio en el mismo modelo con efectos comparables a la prednisolona y la indometacina, también mostró una potente actividad antiinflamatoria en el modelo de edema de pata de carragenina de rata (Kim, Son, Chang, Kang y Kim, 1998). Un derivado biflavonoide sintético, 5,7-dihidroxi-[6,600] -biflavona, también exhibió una actividad antiinflamatoria en el ensayo de edema de pata de ratón con una eficacia comparable a la prednisolona, se sintetizó 5,7-dihidroxi [6,6 "] biflavona la cual mostro mostró una potente actividad antiinflamatoria *in vivo* sobre el edema de la pata inducido por carragenina y actividad analgésica sobre los retorcimientos inducidos por ácido acético en ratones (Lim, Kim, Park, Chang y Kim, 2009). CUF (Formulación Unificada de Carrera) es un agente terapéutico potencial que presenta efectos analgésicos y antiinflamatorios. Cabe destacar que este estudio es el primero en revelar el mecanismo de acción antiinflamatorio y analgésico de este biflavonoide. La falta de toxicidad y las potentes actividades antiinflamatorias y analgésicas sugieren la aplicación potencial de CUF (Formulación Unificada de Carrera) en suplementos dietéticos y alimentos funcionales dirigidos a estados patológicos relacionados con la inflamación. según el contenido en principios activos o ensayos farmacológicos, la cantidad de taninos, su acción astringente y vasoconstrictora justifica los usos en casos de várices, úlceras varicosas, hemorroides y metrorragias durante la menopausia. Los flavonoides tienen, además capacidad antiinflamatoria (Eduarte, J & Ramírez Y., 2016).

Tabla 4. Compuestos identificados como antiinflamatorios

Compuesto aislado	Parte utilizada	Bioensayo	Cita
Biflavonoide	Sin especificar	Administración de amentoflavona por vía intraperitoneal, mostró una potente actividad antiinflamatoria determinada por la mejora del edema de	Kim, Son, Chang, Kang y Kim, 1998

		oreja de ratón inducido por aceite de crotón.	
Flavonoides	Tallos y hojas	No especifico	Gil et al., (1997)
Taninos			
Cupresuflavona	Hojas	Edema inducido por carragenina	Eman Al-Sayed, Haidy A. Gad, & Mohamed El-Shazly (2017)
Biflavona	Sin especificar	Edema inducido por carragenina	(Lim, Kim, Park, Chang y Kim, 2009).

2.4.4 Compuestos aislados

2.4.4.1 Compuestos aislados con actividad antiinflamatoria

Cupressuflavona mostró una reducción significativa ($p < 0,001$) dependiente de la dosis en el edema de la pata inducido por carragenina con un efecto inhibitor máximo después de 180 min de administración (Eman Al-Sayed, et al., 2017). El compuesto principal ácido más isocuprésico, resultó tener un profundo efecto antiinflamatorio sobre el estallido respiratorio de los neutrófilos humanos, el ada lignano (-)- matairesinol mostró una potente actividad antiinflamatoria (Eman Al-Sayeda, et al., 2020).

2.4.4.2 Compuestos aislados con actividad antimicrobiana

El monoterpeno, sesquiterpeno y diterpeno, n terpinel-4-ol, dinopol, α - pineno, y β - pineno (S. Manimaran, S. Themozhil, MJNanjan & B. Suresh, 2007). Terpinen-4-ol (20,29), Sabineno (18,67) (Mohamed, E. I. Badawy, et al., 2014). a-terpineol (19,01%), canfenilona (9,78%), elemol (8,92%), 2-tridecanona (8,75%), acetato de α -terpinilo (8,62%), 2-pentil-2-ciclopenten-1-ona (6,90%) y Bbisabolol (5,83%), y otros componentes (Saad, A. & Mohamed, M. & Ghareeb, M. & Ahmed, W. & Farid, M., 2017), Manimaran et al. (2007) (citado Saad, A. & Mohamed, M. & Ghareeb, M. & Ahmed, W. & Farid, M., 2017) informaron de la potente actividad antimicrobiana del aceite esencial (AE) de la *C. macrocarpa* india y concluyeron que dicha actividad se

debía principalmente a los componentes del AE (aceite esencial), es decir, cariofileno, aterpineol. De los gálbulos se extrae el aceite esencial que contiene alfa y beta pineno, canfeno, candineno, cedrol (alcanfor de ciprés), taninos catéquicos o proantocianidinas y ácidos diterpénicos. En los brotes tiernos se encuentran el aceite esencial y las biflavonas. De las hojas se obtienen los pigmentos amarillos derivados de la fenilbenzo y pirona o fenilcromona, llamados flavonoides, tales como la amentoflavona y la cupresoflavona (Eduarte, J. & Ramírez, Y., 2016).

3. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La infección es la invasión de microorganismos externos al hospedador que van a ser patógenos, estos se van a multiplicar generando algún daño en los tejidos dónde se aloja, debido a esto es el organismo va a generar métodos de defensa para poder erradicar a los agentes patógenos, por ejemplo, las respuestas inmunitarias inespecíficas o las específicas, así como barreras naturales (Bush, M., 2020). Durante las últimas décadas, las infecciones fúngicas han sido consideradas como enfermedades graves que ponen en peligro la salud y la vida, especialmente entre los pacientes inmunodeprimidos (Khouajaa, W. et al., 2015). La inflamación es un proceso biológico complejo que generalmente ocurre en respuesta a desencadenantes patológicos (Al-Sayed, E. et al., 2017), la respuesta de fase aguda es un reflejo de tanto la inflamación aguda como de la inflamación crónica en curso, esto ocurre en una amplia variedad de condiciones inflamatorias como infecciones, trauma, cirugías, quemaduras, infartos tisulares, neoplasias, trastornos reumáticos inflamatorios y ciertas reacciones inmunes a drogas (González, L. & Molina, F., 2010).

4. JUSTIFICACIÓN

El incremento de infecciones bacterianas se debe a la creciente resistencia (OMS), asimismo, los medicamentos de primera línea que se utilizan como fármacos antiinflamatorios son los AINE y corticoides, compuestos que generan problemas secundarios en el paciente (Salinas-Sánchez, 2012), además que muchas veces se le da un uso inadecuado a los antibióticos lo cual no solo representa un problema en la salud por los efectos secundarios que generan, sino que también contribuye al desarrollo de resistencia bacteriana, la cual reduce la efectividad de tratamientos establecidos e incrementa los gastos y la mortalidad por enfermedades infecciosas, por lo que se

considera un grave problema de salud pública , un estudio concluyó que cerca de 90% de las compras de antibióticos para EDAS (enfermedades diarreicas agudas), sin prescripción, en farmacias, eran inadecuadas respecto al tipo, dosis y duración del tratamiento y estudios más recientes indican que entre 70 y 80 % de las recomendaciones terapéuticas proporcionadas por empleados de farmacias para IRAS (infecciones respiratorias agudas), EDAS (enfermedades diarreicas agudas) e infecciones del tracto genito-urinario, mayoritariamente incluyendo antibióticos, son incorrectas (Anahí Dreser, Veronika J Wirtz, Kitty K Corbett & Gabriela Echániz, 2008). También se ha registrado que las enfermedades posoperatorias generalmente son causadas por enterobacterias como *Escherichia coli* y bacterias como *Staphylococcus* el cual también es el principal responsable de enfermedades intrahospitalarias, estas enfermedades tienen un impacto económico indudable , debido al impacto directo que ejercen sobre la prolongación de la estancia del paciente en el hospital y el incremento de los costos por este concepto, así como los atribuibles a las pruebas complementarias que se requieren, al uso de medicamentos, la utilización de materiales de curación en grandes cantidades y el tiempo empleado por médicos y enfermeras a su cuidado, elevando los costos en promedio a 21 000 dólares por infección posquirúrgica en los Estados Unidos de Norteamérica, representando de esta forma una problemática realmente importante a nivel socioeconómico (Zenén Rodríguez Fernández, Olga Fernández López & Amparo Mirabal Fariñas, 2016). Ante este problema, se ha hecho indispensable la búsqueda de compuestos con actividad antiinflamatoria, antibacteriana y antifúngica, que no tengan consecuencias adversas a la salud y que no generen una problemática económica o social. El género *Cupressus* ha demostrado contar con estudios farmacológicos antiinflamatorios, contra bacterias y hongos (Harraz et al. 2018; Al-Sayed et al., 2017), por lo tanto, esta investigación evaluará el potencial farmacológico a nivel extracto de *C. macrocarpa*, en modelos de actividad antiinflamatoria y antimicrobiana.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Extractos aislados de *Cupressus macrocarpa* presentarán actividad biológica en modelos *in vivo* e *in vitro* de actividad antiinflamatoria y antimicrobiana?

6. HIPÓTESIS

Especies del género *Cupressus* han demostrado contar con diversas actividades biológicas, entre las que destacan la actividad antiinflamatoria, antimicrobiana y antifúngica, por este motivo *Cupressus macrocarpa* presentará alguna de estas actividades biológicas en modelos *in vivo* e *in vitro*.

7. OBJETIVOS

General:

- Evaluar la actividad antimicrobiana y antiinflamatoria de extractos aislados de *Cupressus macrocarpa*.

Particulares:

1. Obtener tres extractos orgánicos de polaridad ascendente de la especie vegetal *Cupressus macrocarpa*.
2. Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos en cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* mediante bioensayos de laboratorio.
3. Evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos obtenidos mediante un modelo *in vivo* en ratón.
4. Determinar el grupo de compuestos presentes en el extracto activo mediante técnicas cromatográficas.

8. METODOLOGÍA

8.1 Consideraciones generales

El 13-acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol (TPA) y la indometacina (Indo) se adquirieron de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EE. UU.). El *n*-hexano, diclorometano, acetona, metanol y acetonitrilo se adquirieron de Mallinckrodt Baker (Phillipsburg, NY, EE. UU.). Los extractos orgánicos se analizaron mediante el método cromatográfico tradicional TLC (cromatografía en capa fina), las placas cromatográficas se obtuvieron de Merck KGaA (Darmstadt, Alemania), se emplearon reveladores como, 4-hidroxibenzaldehído (komarovsky) y sulfato sérico para detectar terpenos, así como también 2 amino etil difenil borinato (NP-PEG) para la determinación de flavonoides. Las placas cromatográficas, fueron observadas en una lámpara compacta de luz ultravioleta 95-021-12 (115v) Uvp Uvgl-25 254/365 nm donde posteriormente se

marcaron las bandas de compuestos. Para la determinación del grupo de compuestos del extracto metanólico de *C. macrocarpa* (CmEM), se llevó a cabo un análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en un equipo Waters 2695, equipado con un detector de matriz de fotodiodos Waters 2996.

8.2 Obtención del material biológico

Tres árboles de 1.6 metros de altura de *C. macrocarpa*, fueron comprados el 25 de septiembre de 2021, en el municipio de Xochitepec Morelos, en el vivero “Tezoyuca”, Carretera Tejalpa - Zacatepec s/n, Tezoyuca, Morelos; donde la especie fue crecida en condiciones de humedad, luz y sombra controladas, coordenadas Latitud: 18° 47' 58 " N, Longitud: -99° -11' -55" W, Altitud: 1188 msnm. Los árboles fueron podados en el interior del CIByC-UAEM, para obtener 550 g de hojas frescas (Figura 1). Una muestra fue enviada al herbario de CIByC-UAEM.



Figura 1. Poda del material vegetal

8.3 Obtención de los extractos de *n*-hexano, diclorometano y metanol de *Cupressus macrocarpa*

El material vegetal fresco fue secado en la sombra a temperatura ambiente, durante 15 días, posteriormente las partes aéreas se molieron por separado (Figura 2).

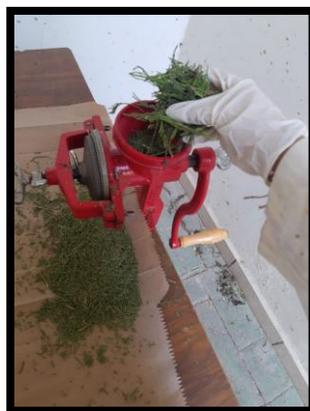


Figura 2. Molienda del material vegetal.

Seguido a esto, se extrajo el material vegetal por maceración con los siguientes disolventes: *n*-hexano, diclorometano y metanol (Figura 3). La extracción se llevó a cabo dos días por duplicado. El disolvente se eliminó totalmente a través de destilación a presión reducida en un rotavapor BUCHI 205 (Figura 4), acto seguido los extractos fueron puestos a secar mediante una liofilizadora, para finalmente ser refrigerados.

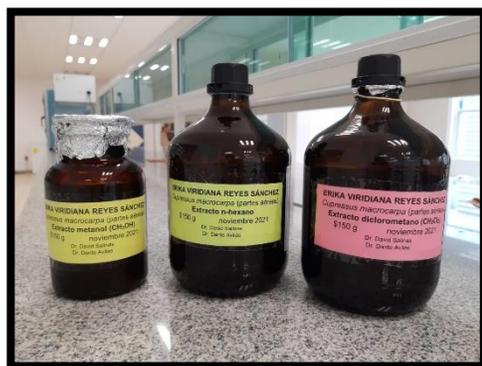


Figura 3. Maceración del material vegetal

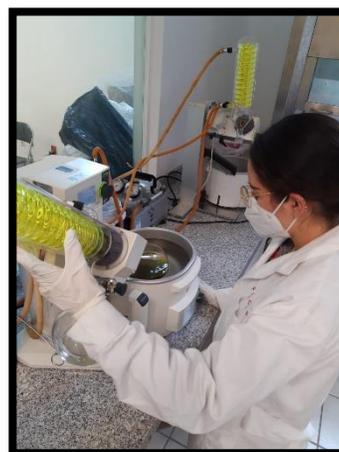


Figura 4. Destilación del extracto

8.4 Cromatografía en capa fina

Las placas cromatográficas fueron analizadas por medio de Luz Ultravioleta, en una lámpara compactada Luz UV 95-0021-12 (115 UV), Uvp Uvgl-25 254/365 nm donde fue posible observar las bandas de los diferentes compuestos, además las placas se revelaron con 2-aminoetildifenilborinato (NP-PEG) y 4 hidroxibenzaldehído (komarovsky) para la detección de productos naturales del tipo flavonoide y terpenoide

respectivamente. También se utilizó como revelador sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N.

Placas cromatográficas de los extractos aislados de polaridad ascendente (*n*-hexano, diclorometano y metanol).

Placas cromatográficas fase normal de los 3 extractos obtenidos



Figura 5. CmEH, 80:20 *n*-hexano:acetona LUV onda larga .

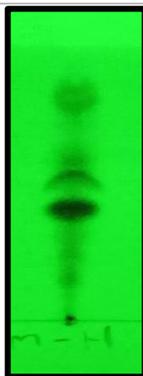


Figura 6. CmEH, 80:20 *n*-hexano:acetona. LUV onda corta



Figura 7. CmEH, 80:20 *n*-hexano:acetona. Revelado con komarovsky.



Figura 8. CmEH, 80:20 *n*-hexano:acetona. Revelado con NP-PEG



Figura 9. CmEH, 80:20 *n*-hexano:acetona, LUV onda larga

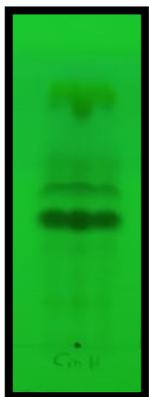


Figura 10. CmEH, 80:20 *n*-hexano: acetona, LUV onda corta

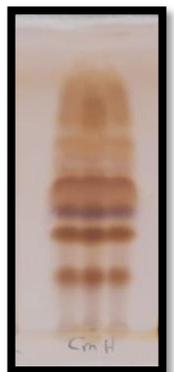


Figura 11. CmEH, 80:20 *n*-hexano:acetona.Revelado con sulfato cérico



Figura 12. CmED, 95:5 diclorometano-metanol, LUV onda larga

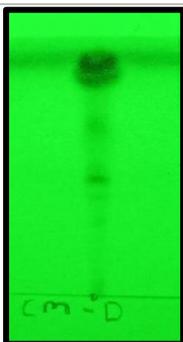


Figura 13. CmED, 95:5 diclorometano-metanol, LUV onda corta

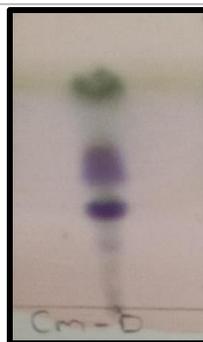


Figura 14. CmED, 95:5 diclorometano-metanol. Revelado con komarovsky



Figura 15. CmED, 95:5 diclorometano-metanol. Revelado con NP-PEG



Figura 16. CmED, 95:5 diclorometano-metanol, LUV onda larga



Figura 17. CmED, 95:5 diclorometano-metanol, LUV onda corta.



Figura 18. CmED, 95:5 diclorometano-metanol. Revelado con sulfato cérico.



Figura 19. CmED, 90:10 diclorometano-metanol, LUV onda larga



Figura 20. CmED, 90:10 diclorometano-metanol, LUV onda corta

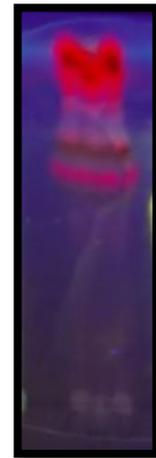


Figura 21. CmED, 90:10 diclorometano-metanol. Revelado con NP-PEG LUV onda larga



Figura 22. CmEM, 70:30 diclorometano-metanol, LUV onda larga

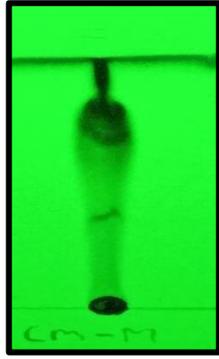


Figura 23. CmEM, 70:30 diclorometano-metanol, LUV onda corta

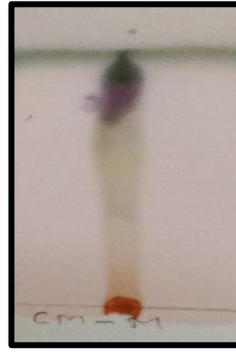


Figura 24. CmEM, 70-30 diclorometano/metanol. Revelado con komarovsky

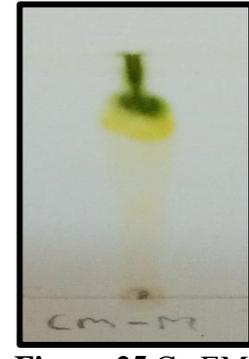


Figura 25. CmEM, 70-30 diclorometano/metanol. Revelado con NP-PEG

Placas cromatográficas fase reversa de los 3 extractos obtenidos



Figura 26. CmEM, 5-5 agua/acetonitrilo, LUV onda larga

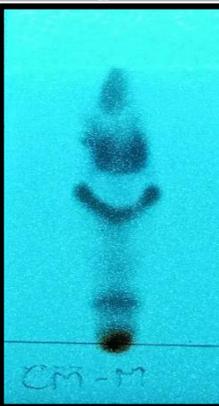


Figura 27. CmEM, 5-5 agua/acetonitrilo, LUV onda corta

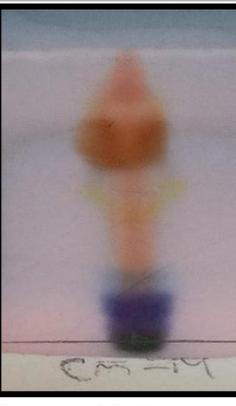


Figura 28. CmEM, 5-5 agua/acetonitrilo. Revelado con Komarovsky



Figura 29. CmEM, 5-5 agua/acetonitrilo. Revelado con NP-PEG

8.6 Microorganismos

Los microorganismos que se utilizaron para el modelo *in vitro* fueron una bacteria gramnegativa (*Escherichia coli*) (Figura 30) y una bacteria grampositiva (*Staphylococcus aureus*) (Figura 31). Asimismo, se utilizó un hongo levaduriforme (*Candida albicans*) (Figura 32). Las bacterias se mantuvieron en agar tróptico de soja, se ensayaron en agar Mueller-Hinton, en el caso del hongo levaduriforme se utilizó el agar Mueller-Hinton para mantenerlo y como medio de ensayo.

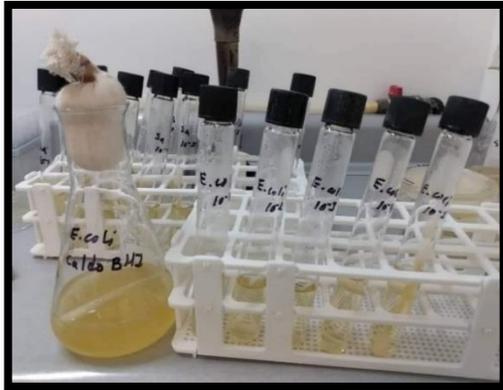


Figura 30. Activación de la enterobacteria gramnegativa *E. coli*

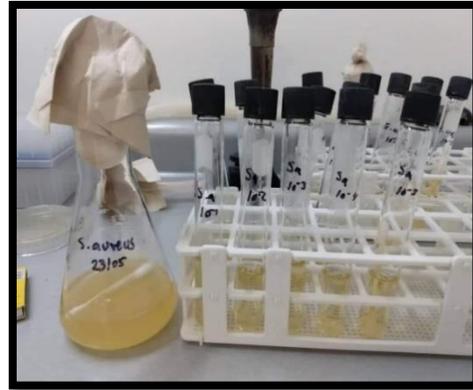


Figura 31. Activación de la bacteria grampositiva *S. aureus*

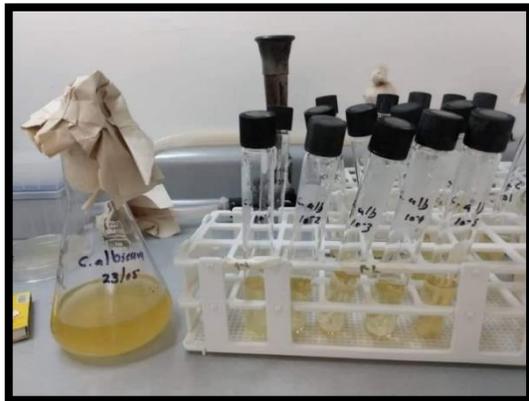


Figura 32. Activación de la levadura *C. albicans*

8.7 Fármacos de referencia

Se utilizó la gentamicina como control positivo de la actividad antimicrobiana.

8.8 Medios de cultivo

Las cepas liofilizadas se replicaron en tubos con agar nutritivo (bacterias) y agar dextrosa saboraud (levadura) y se incubaron por 24 horas a $35 \pm 2^\circ \text{C}$, excepto la levadura *C. albicans* la cual se incubó a $29 \pm 2^\circ \text{C}$ por 48 horas. Para preparar el inóculo se cultivaron en el medio infusión cerebro corazón. Para las pruebas de actividad antimicrobiana según el método de difusión en pozos de agar en: agar para métodos estándar (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*), agar dextrosa sabouraud (*Candida*

albicans). Todos los medios se prepararon y trataron según las instrucciones del fabricante (MCD LAB).

8.9 Preparación del inóculo.

1 UFC de cada microorganismo se inoculó en el medio infusión cerebro corazón durante 48 h a $35 \pm 2^\circ$ C. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-5} .

8.10 Método modificado de difusión en pozos de agar

Se prepararon los medios agar para métodos estándar para inocular *E. coli* y *S. aureus* y agar dextrosa sabouraud para inocular *C. albicans*. Se hizo el frotis del inóculo sobre cada una de las superficies de los agares estipulados para este método. Posteriormente, se hicieron los pozos sobre la superficie de los agares con ayuda de un sacabocados estéril de 6 mm de diámetro, en el fondo de cada pozo se colocó un disco de papel filtro estéril de 6 mm (Whatman No. 42) y en cada uno de los pozos se vertieron 25 μ L de cada concentración correspondiente de los extractos por triplicado. Las concentraciones empleadas del extracto fueron 0.125, 0.25, 0.50, 1, 2, 4, 8, 16 y 32 mg/mL. Se dejó reposar por 30 minutos. Las placas se incubaron a $35 \pm 2^\circ$ C por 48 horas. Posteriormente, se midieron los halos de inhibición incluyendo el diámetro de los discos.

8.11 Animales de experimentación

Los ratones fueron proporcionados por la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM). Los experimentos se realizaron de acuerdo con la norma oficial mexicana: NOM-062-ZOO-1999, lineamientos (especificaciones técnicas para la producción cuidado y uso de animales de laboratorio) y normas éticas internacionales para el cuidado y uso de animales de experimentación. Los ratones se mantuvieron a una temperatura de $22 \pm 3^\circ$ C, $70\% \pm 5\%$ de humedad con ciclos de 12 h. de luz-oscuridad, con comida/agua. (Figura 33 y 34)



Figura 33. Grupo CmED



Figura 34. Grupo control positivo

8.12 Modelo de inflamación aguda en ratones con TPA

Con base en la metodología descrita por Salinas-Sánchez et al 2012, los ratones se agruparon (Figura 35), posteriormente se les aplicó TPA (2.5 μ g) disuelto en acetona (20 μ L) en la superficie interna y externa de la oreja para causar edema (Figura 36). El fármaco antiinflamatorio de referencia indometacina, se administró en 1mg/oreja (Figura 37). Todos los tratamientos se disolvieron en acetona y se aplicaron tópicamente en la oreja inmediatamente después de la administración de TPA (Figura 38). La dosis fue de 2 mg/oreja de cada extracto.

Seis horas después de la administración del agente inflamatorio, los animales se sacrificaron por dislocación cervical. Se tomaron secciones circulares de 6 mm de diámetro de ambas orejas (Figura 39). Las orejas tratadas (wt) y las no tratadas (wnt), se pesaron para determinar la inflamación. El porcentaje de inhibición se obtuvo usando la siguiente expresión:

$$\% \text{ de inhibición} = [\text{control } \Delta w - \text{tratamiento } \Delta w / \Delta w] [100]$$

Donde $\Delta w = wt - wnt$, wt es el peso de la sección de la oreja tratada; wnt es el peso de la sección del oído no tratado.



Figura 35. Agrupación de los animales.



Figura 36. Aplicación del TPA



Figura 37. Aplicación de indometacina



Figura 38. Aplicación de los tratamientos.



Figura 39. se muestran las secciones circulares tomadas

8.13 Análisis estadísticos

Los resultados se expresan como \pm error estándar de la media (SEM) y se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y posprueba de Bonferroni (* $p < 0,05$).

9. RESULTADOS

9.1 Rendimientos

Los rendimientos obtenidos para cada extracto se muestran a continuación en la Tabla 5.

Tabla 5. Rendimientos de los extractos de *Cupressus macrocarpa*

Planta/ Parte	Disolvente	Clave	Peso del extracto (g)	Rendimiento (%)
Hoja	<i>n</i> -hexano	CmEH	4.0	2.6
Hoja	diclorometano	CuED	12.5	8.3
Hoja	Metanol	CuEM	22.2	14.8

9.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto CmEM

Las diferentes concentraciones evaluadas del extracto CmEM presentaron nula inhibición del crecimiento de *E. coli* (Figura 40), *S. aureus* (Figura 41) y *C. albicans* (figura 42), solamente fue posible medir los halos de inhibición de las sustancias control, gentamicina (10 µg) y nistatina [0.2 mg/mL] (Tabla. 6). No se pudo determinar la concentración mínima inhibitoria.

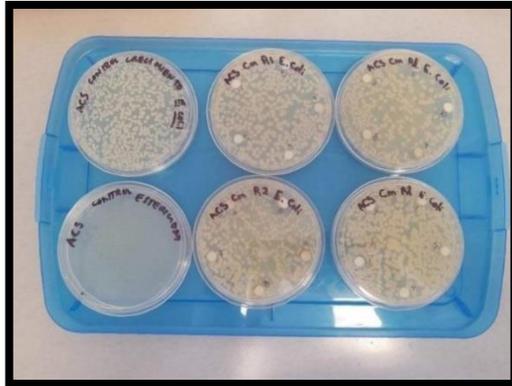


Figura 40. Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto CmEM1a contra *E. coli* mediante el método de difusión en posos de agar.

Figura 41. Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto CmEM1 contra *S. aureus* mediante el método de difusión en posos de agar.

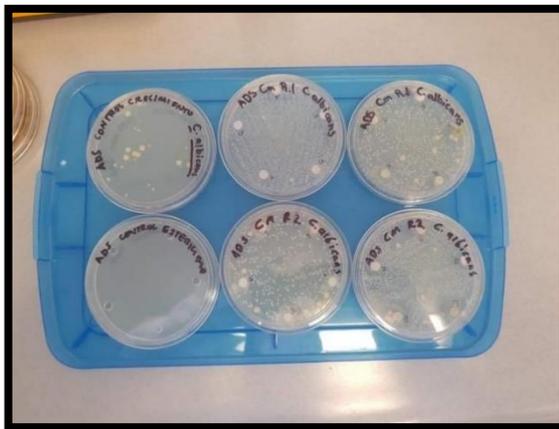


Figura 42. Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto CmEM1 contra *C. albicans* mediante el método de difusión en posos de agar.

Tabla 6. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto CmEM

Tratamientos (Concentración)	Inhibición	Halo de inhibición (mm)*		
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
Control	0	--	--	--
Gentamicina (µg)	10	1	19 ± 1	20 ± 1
Nistatina [mg/mL]	0.2	1	NE	NE
Extracto CmEM [mg/mL]	0.125	0	--	--
	0.250	0	--	--
	0.500	0	--	--
	1	0	--	--
	2	0	--	--
	4	0	--	--
	8	0	--	--
	16	0	--	--
	32	0	--	--

0= crecimiento bacteriano, 1= inhibición del crecimiento microbiano, NE= no evaluado, --= no presentó, * = se presenta la media ± la desviación estándar

9.3 Actividad antiinflamatoria

El efecto antiinflamatorio de los extractos aislados de *C. macrocarpa*, fue probado a 2 mg/oreja en el modelo de edema en oreja de ratón inducido con TPA. El extracto de metanol de *C. cupressus* despliega inhibición significativa del edema del 69.91%. Por otro lado tanto, los dos extractos de polaridad baja e intermedia (CmEH y Cm ED) también mostraron inhibición del edema en un 56.33 y 51.87% respectivamente.

Tabla 7. Actividad antiinflamatoria de extractos aislados de *Cupressus macrocarpa* en edema auricular de ratón inducido por TPA

Substancia	Tiempo (h)	Dosis (mg/oreja)	Edema (mg) Prom. ± EEM	Inhibición del edema (%)
TPA		---	7.1 ± 3.69	---
CmEH	6	2.0	3.10 ± 1.78 *	56.33
CmED			3.41 ± 1.61 *	51.87
CmEM			2.18 ± 1.26	69.24
Indo			2.42 ± 2.26 *	65.91

**p* < en comparación con el grupo de TPA

CmEM demostró una importante actividad antiinflamatoria. En la cromatografía en capa fina se puede observar compuestos de tipo flavonoide (Figura 25), el análisis de HPLC demostró que este extracto contiene alrededor de 6 compuestos mayoritarios, los cuales al ser comparados con una muestra autentica fue posible determinar la presencia de un iridoide glicosilado, de galatos (compuestos derivados de ácido gálico) y de apigenina.

9.4 Análisis de HPLC

El cromatograma de HPLC de CmEM, se muestra en la Figura 43. El tiempo de retención y los espectros UV del extracto de metanol de las hojas de *Cupressus macrocarpa*, mostraron la presencia de flavonoides, en primera instancia se logró determinar un iridoide glicosilado (pico A) (Figura 44) debido al tiempo de retención de 3.964 min y un espectro de UV de $\lambda_{nm} = 216.9, 373.0, 443.9, 471.7, 495.9$ y 544.5. A los galatos, compuestos derivados del ácido gálico (pico B) Figura 45, con un tiempo de retención de 8.247min y un espectro de UV de $\lambda_{nm} = 214.5, 370.6, 481.4, 510.5, 531.1$, Figura 46 con un tiempo de retención de 8.517 min y un espectro de UV de $\lambda_{nm} = 211.0, 276.9, 307.7, 375.4, 495.9, 522.9$ y Figura 47 con un tiempo de retención de 8.948 min y un espectro de UV de $\lambda_{nm} = 263.9, 319.6, 421.0, 459.6$ y 526.3. Por último, se determinó a la apigenina (pico C) (Figura 48) con un tiempo de retención de 16.109 min y un espectro de UV de $\lambda_{nm} = 227.4, 272.2, 329.1, 459.6, 511.7, 532.3, 559.1$. Todos los metabolitos secundarios de este extracto vegetal se identificaron por comparación con los datos de los compuestos estándar registrados en una base de datos de nuestro grupo de trabajo.

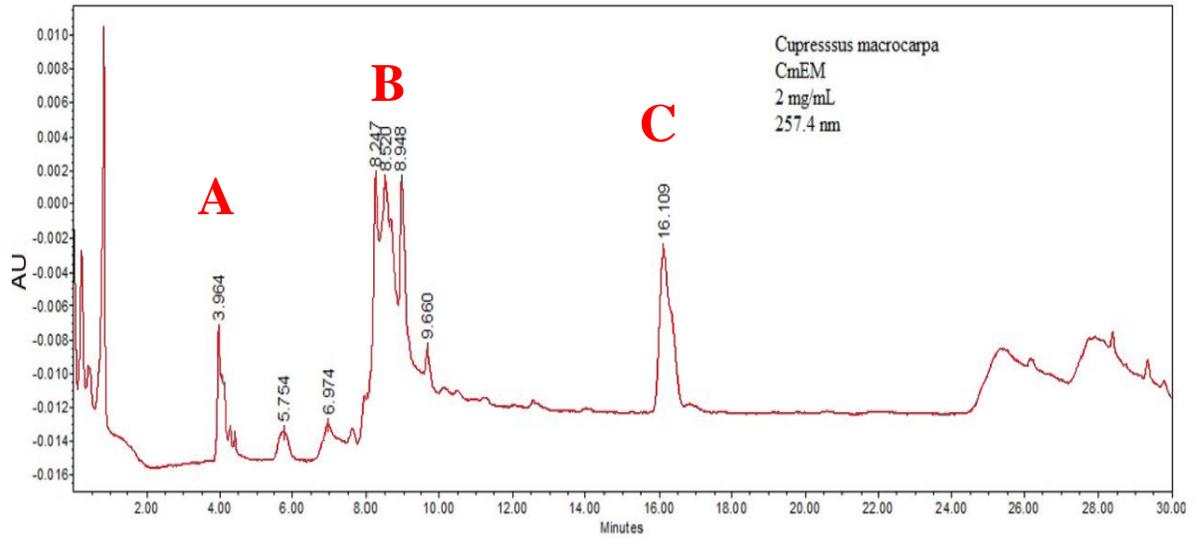


Figura 43. Cromatograma de HPLC correspondientes al extracto de metanol de hojas de *Cupressus macrocarpa* (CmEM). Mostrando la presencia de compuestos como iridoide glicosilado (pico A), galatos, compuestos derivados del ácido gálico (pico B), apigenina picos C).

A

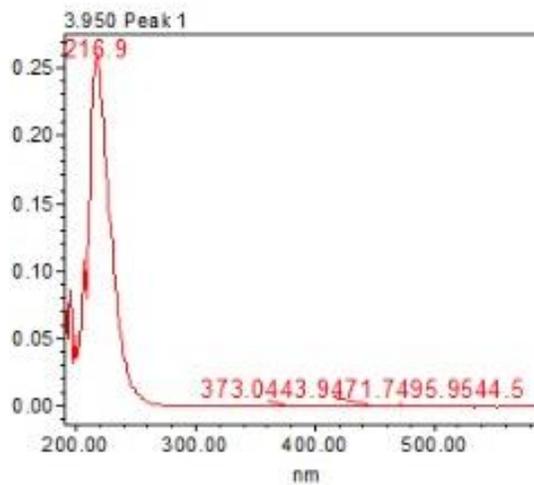


Figura 44. Iridoide Glicosilado (Pico A).

B

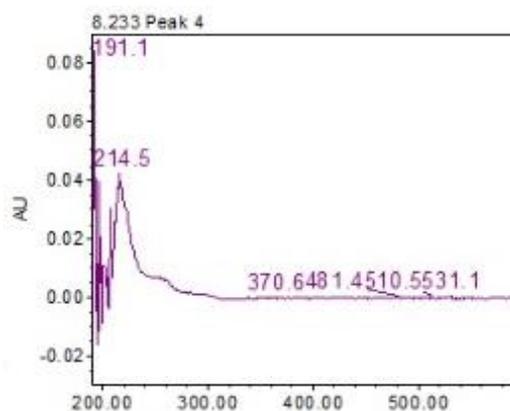


Figura 45. galatos, compuestos derivados del ácido gálico (Pico B)

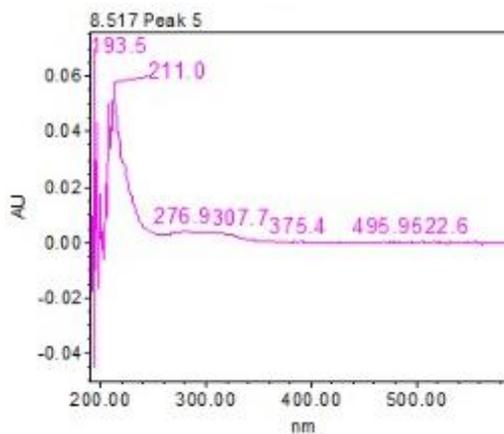


Figura 46. galatos, compuestos derivados del ácido gálico (Pico B)

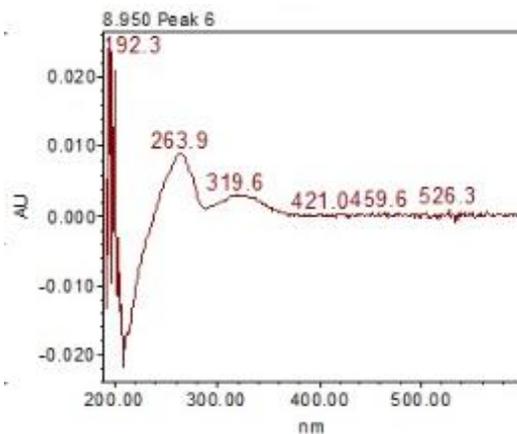


Figura 47. galatos, compuestos derivados del ácido gálico (pico B)

C

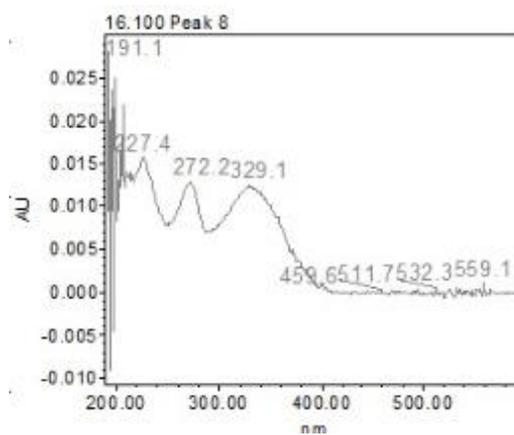


Figura 48. apigenina (Pico C)

10. DISCUSIÓN

Las plantas del género *Cupressu* pertenecen a la familia de Cupressaceae, que es la familia de las coníferas, diferentes especies se han utilizado en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas dolencias como inflamaciones e infecciones. (Nabaweya Ali Ibrahim, Hesham Rushdey El-Seedi & Magdy Mostafa Desoky Mohammed, 2007). *Cuppressus macrocarpa* es un árbol ornamental muy conocido alrededor del mundo se ha utilizado tradicionalmente durante muchas décadas para tratar diferentes enfermedades y dolencias, por ejemplo, para aliviar la tos, como astringente, para la retención de líquidos y el reumatismo (Thukral, et al., 2014). En la medicina tradicional mexicana, en especial en el estado de Morelos, el género *Cupresus* ha sido muy utilizado para aliviar varios padecimientos, por ejemplo *C. lusitánica* ha sido usada para calmar el dolor de los músculos, para la frialdad, para tranquilizar el sueño, esto debido a que sus ramas son puestas al calor y desprenden aceites volátiles (Monrroy & Castillo 2000); además de un estudio donde se logró identificar propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antisépticas (Mora, J. & Ramírez, Y., 2016). Otros estudios del género sugieren que la especie de *Cupressus sempervirens* L. "ciprés", tiene una concentración de flavonoides en su extracto hidroalcohólico de hojas de 20.16 mg/L, y en un extracto hidroalcohólico de tallos es 15.16 mg/L, mientras que la concentración de taninos el extracto hidroalcohólico de hojas de es 4.102 mg/L, y en el de tallos es 5.543 mg/L lo que le confiere un efecto cicatrizante (Gil, E. & Saldaña, R., 2020). Atalaya, Y. & Mantilla, D. (2017) encontraron que el extracto hidroalcohólico de *C. sempervirens* cuenta con una actividad antibacteriana contra la cepa de *Pseudomona aeruginosa*. Un trabajo de investigación reveló la actividad antimicrobiana de fracciones aisladas con éter de petróleo de *C. macrocarpa* frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), (Harraz FM et al., 2018). Hay estudios del género *Cupressus* donde comentan que algunas especies tienen actividad antiinflamatoria tal es el caso de *C. sempervirens* L., además de ser utilizada para el tratamiento de la tos, los resfriados y las infecciones parasitarias (Nabaweya et al., 2007). Por estos antecedentes se decidió estudiar tres extractos obtenidos de *C. macrocarpa* (*n*-hexano, diclorometano y metanol) para evaluar la actividad antimicrobiana en tres cepas de microorganismos, dos bacterias *Staphilococcus aureus* y *Escherichia. coli*, y una levadura *Candida albicans*, y

determinar su actividad antiinflamatoria en un modelo de edema en oreja de ratón inducido por 13 acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol (TPA). Sabemos que la inflamación es un proceso biológico complejo, generalmente ocurre en respuesta a desencadenantes patógenos (Al-Sayed & Gad, 2017) y al exponer durante varias horas la oreja de ratón con el compuesto irritante como el TPA provoca estrés oxidativo, inflamación cutánea e hiperplasia epidérmica ya que aumenta la proliferación de queratinocitos y la producción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) que es una citocina proinflamatoria, además de la formación de leucotrienos (LTB₄), que provocan un aumento de la permeabilidad vascular y la afluencia de neutrófilos, de tal forma que en este estudio, todos los extractos aislados de las hojas de *C. macrocarpa* mostraron actividad antiinflamatoria disminuyendo el edema, CmEH inhibió el edema en un 56.33 %, CmED en un 51.87% y el extracto con mayor efecto antiinflamatorio fue CmEM con una inhibición del 69.24%. Esta mayor actividad en el extracto de polaridad alta (CmEM), probablemente esta atribuida al compuesto apigenina, que es un producto natural que pertenece a la clase flavona que es la aglicona de varios glucósidos de origen natural (Kuklinski, 2000; Bruneton 2001), ya que un análisis de HPLC reveló la presencia de este flavonoide relativamente no tóxico y no mutagénico con una farmacodinamia notable, estudios epidemiológicos y preclínicos recientes presentan evidencia considerable a favor del desarrollo de la apigenina como una terapia alternativa natural contra condiciones inflamatorias crónicas (Ginwala et al., 2019, Salehi et al., 2019). Esto es importante debido al contenido de apigenina en *C. macrocarpa* y abre un potencial para estudios futuros sobre la cuantificación del flavonoide en el cedro limón, para el aprovechamiento del recurso natural el cual generalmente se cultiva en invernadero. Además, en un estudio reciente se encontró que de las hojas de *Cupressus macrocarpa*, se aislaron diez compuestos que incluían tres nuevos diterpenos (1-3), su efecto citotóxico y antiinflamatorio de los compuestos aislados fueron evaluados. Los nuevos compuestos pueden inhibir selectivamente la línea celular de cáncer de mama triple negativo (MDA-MB-231). El compuesto principal [ácido isocuprésico (6), rendimiento 0.012%] Se encontró que tiene un profundo efecto antiinflamatorio sobre el estallido respiratorio en neutrófilos humanos, lo cual es consistente con los registros medicinales tradicionales de esta planta. El compuesto Lignano (-)-matairesinol (8) mostró una potente actividad

antiinflamatoria. estos hallazgos prueban que *C. macrocarpa* es una rica fuente de lignanos y diterpenos con potenciales propiedades citotóxicas y antiinflamatorias (Alsayed, E....& Cheng, Y., 2020), de igual forma en un estudio realizado por Eman Al-Sayed, et al., 2017, destacan que el efecto analgésico en los grupos tratados con 80 y 160 mg/kg de cupresuflavona no fue diferente del grupo tratado con diclofenaco sódico, el tratamiento con cupresuflavona exhibió un efecto dependiente de la dosis y reducción significativa ($p < 0.001$) en el edema de la pata inducido por carragenina con efecto inhibitorio máximo después de 180 min de administración, teniendo como resultado un porcentaje de inhibición del 25, 48 y 62% a las dosis de 40, 80 y 160 mg/kg, respectivamente.

Por otro lado, aunque hay estudios relacionados con la actividad antimicrobiana de *C. macrocarpa* (Harraz FM et al., 2018; Saad et al., 2017), donde se reporta una actividad significativa frente a bacterias grampositivas, particularmente contra *B. coagulans*, *B. megaterium* y *S. subtilis*, el aceite y la formulación de crema al 2% mostró una mejor actividad contra todas cepas fúngicas en comparación con la de las bacterias y también mostró actividad equipotente contra el fármaco estándar, griseofulvina (Manimaran, S. et al., 2007) o estudios donde se exhibe que el aceite esencial separado de las hojas de *C. macrocarpa* exhibió una fuerte actividad antimicrobiana contra grampositivas y cepas patógenas, que pueden atribuirse a la presencia de α -terpineol (19,01%) como componente mayoritario, o por el efecto sinérgico entre los constituyentes generales α -terpineol (19,01 %), canfenilona (9,78 %), elemol (8,92 %), 2-tridecanona, (8,75 %), acetato de α -terpinilo (8,62 %), 2-pentil-2-ciclopenten-1-ona (6,90%) y β -bisabolol (5,83%), por lo que podría ser utilizado en la tratamiento de infecciones microbianas, sin embargo, a pesar de estos resultados en este trabajo no se pudo determinar dicha actividad.

11. CONCLUSIÓN

El extracto metanólico de las hojas de *C. macrocarpa* a 2 mg/oreja mostró una buena actividad antiinflamatoria (69.24% de inhibición del edema), este valor de inhibición fue comparado con nuestro control positivo la indometacina que inhibió el edema en un 65.91%. El análisis de HPLC reveló la presencia de un iridoide glycosilado, de galatos (derivados de ácido gálico) y apigenina, estos metabolitos secundarios se identificaron por comparación con los datos de los compuestos estándar registrados en una base de datos de nuestro grupo de trabajo. Desafortunadamente no encontramos actividad antimicrobiana con los extractos probados. Al parecer la actividad antiinflamatoria presentada por el extracto de mayor polaridad se debe al flavonoide apigenina, ya que la literatura reciente determina que este compuesto podría ser usado como una terapia alternativa contra la inflamación crónica.

12. REFERENCIAS

- Al-Sayed**, E. Gad, H. El-Shazly, M. Abdel-Daim, M. Nasser, A. (2017). Anti-inflammatory and analgesic activities of cupressu flavone from *Cupressus macrocarpa*: Impact on pro-inflammatory mediators. *Drug Development Research*, 79 (1), 22-28. 10.1002/ddr.21417
- Atalaya**, Y. & Mantilla, D. (2017, abril). Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cupressus sempervirens* “Ciprés” y *Pelargonium hortorum* L. “Geranio rojo” en la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*. [Título profesional, universidad privada Antonio Guillermo Urrelo]. Repositorio Google académico.
- Badawy**, M. & Abdelgaleil, S. (2014, enero). Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. *INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS*, 52, 776-782. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.003>
- Bazilio**, O. & Martins, D. & Pereira, N. (2020). O saber tradicional e o uso de plantas medicinais por Moradores do assentamento padre Ezequiel em mirante da Serra – ro, Brasil. *BIODIVERSIDADE*, 19(1), 77-96.
- Bendímez Salinas**, S. G. (2007). Análisis taxonómico y distribución de la familia cupressaceae en el estado de Durango [Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional]. Repositorio Dspace <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/4009>
- Botargues M**, Enz P, Musso C. (2011). Tratamiento con corticoides. *Evid Act Pract Ambul*, 14(1), 33 - 36. Recuperado de <https://www.fundacionmf.org.ar/files/11.pdf>
- Botargues**, M. & Enz, P. & Musso, C. (2011). Nota farmacológica: Tratamiento con corticoides. *EVID ACT PRACT AMBUL*, 14(1), 33-36.
- Bruneton**, Jean. (2001). *Farmacognosia*. Editorial ACRIBIA, S.A. ZARAGOZA, España.
- Bush**, L. & Schmidt, C. (Julio 2020). Mecanismos de defensa del huésped frente a la infección. Manual MSD versión para profesionales. <https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/enfermedades-infecciosas/biolog%20de-las-enfermedades-infecciosas/mecanismos-de-defensa-del-hu%20sped-frente-a-la-infecci%203n>

- Carlos G. Malbrán** (2017). Protocolo para determinación de Concentración Inhibitoria Mínima por el Método de Microdilución. Aplicación para determinar la sensibilidad a Colistín. Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-ANLIS, (1), 1-3. Recuperado de <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-CIM-microdiluci%C3%B3n-COL-version1-Julio-2017.pdf>
- Centros** para el Control y Prevención de Enfermedades (s. f.). HOJA DE INFORMACIÓN BÁSICA SOBRE EL SARM [póster]. Desarrollado con el apoyo de la Fundación CDC mediante una subvención educativa de Pfizer Inc. https://www.cdc.gov/mrsa/pdf/MRSA_CnsmrFactSht_SPAN.pdf
- Centros** para el Control y Prevención de Enfermedades (s. f.). *Staphylococcus aureus* en entornos sanitarios. consultado el 17 de abril de 2021. <https://www.cdc.gov/hai/organisms/staph.html>
- Cervantes, E. García, R. Reséndiz, A. Salazar, M.** (2015). Infections of Diabetic Foot Ulcers With Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. The International Journal of Lower Extremity Wounds, 14(1), 28–30. [10.1177/1534734614564053](https://doi.org/10.1177/1534734614564053)
- Crespo, V. & Martínez, F. & Moreno, J. & Rocha, A.** (2005). Guía de buena práctica clínica infecciones fúngicas. International Marketing & Communication, S.A.
- Cueva Infante, C.** (2019). Etnobotánica de las plantas medicinales del caserío Laguna San Nicolas, distrito de Namora - Cajamarca [Tesis de Ingeniería, Universidad Nacional de Cajamarca]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional de Cajamarca <http://repositorio.unc.edu.pe/handle/UNC/3311>
- Domingo, J.** (2002, Julio-agosto). Gastropatía por AINE efectos adversos. FARMACIA PROFESIONAL, 16(7), 48-54.
- Dreser, Anahí, Wirtz, Veronika J, Corbett, Kitty K, & Echániz, Gabriela.** (2008). Uso de antibióticos en México: revisión de problemas y políticas. Salud Pública de México, 50(Supl. 4), S480-S487. Recuperado en 09 de mayo de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342008001000009&lng=es&tlng=es.
- Fernández, Z. & López, O. & Fariñas, A.** (2016, abril). Repercusión socioeconómica de las infecciones posoperatorias. MEDISAN, 20(4), 1-4.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192016000400018

Fica, A. (2005). Aspectos básicos sobre antimicrobianos I: REVISTA BIOMÉDICA REVISADA POR PARES, 5(2).

Flores, R. & Rosado, U. & Valerio, A. & Muñiz, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el instituto mexicano del seguro social. REVISTA MÉDICA DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL, 54(1), 20-24. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457745148004>

Galván, Fiorela, Agapito, Juan, Bravo, Nora, Lagos, José, & Tamariz, Jesús. (2016). Caracterización fenotípica y molecular de *Escherichia coli* productoras de β -Lactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de Lima, Perú. Revista Médica Herediana, 27(1), 22-29. Recuperado en 29 de marzo de 2021, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2016000100004&lng=es&tlng=es.

García Palomo, J. D., Agüero Balbín, J., Parra Blanco, J. A., & Santos Benito, M. F. (2010). Enfermedades infecciosas. Concepto. Clasificación. Aspectos generales y específicos de las infecciones. Criterios de sospecha de enfermedad infecciosa. Pruebas diagnósticas complementarias. Criterios de indicación. Medicine, 10(49), 3251–3264. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(10\)70027-5](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(10)70027-5)

García, A. (s. f.). INFLAMACION. La cicatrización de las heridas, pp. 1-3, Recuperado en 16 de abril de 2021, de <http://www.oc.lm.ehu.es/Departamento/OfertaDocente/PatologiaQuirurgica/Contenidos/Apoyo/Cap%201%20La%20inflamaci%C3%B3n.pdf>

García, E. & González, R. & Schettino, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. REVISTA LATINOAMERICANA DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y MEDICINA DE LABORATORIO. 61(1), 28-40. <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

García, J. A. Cantón, R. García, J. E. Gómez, M. L. Martínez, L. & Vila, J. (2000). Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, (1), 13-52. Recuperado de

<https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

- García, J. A.** Cantón, R. García, J. E. Gómez, M. L. Martínez, L. & Vila, J. (2001). Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, (1), 4-37. Recuperado de <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia12.pdf>
- Gernandt, David S., & Pérez-de la Rosa, Jorge A.** (2014). Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México. Revista mexicana de biodiversidad, 85(Supl. ene), S126-S133. <https://doi.org/10.7550/rmb.32195>
- Gil, B., Sanz, M. J., Terencio, M. C., Gunasegaran, R., Payá, M., & Alcaraz, M. J.** (1997). Morelloflavone, a novel biflavonoid inhibitor of human secretory phospholipase A2 with anti-inflammatory activity. Biochemical pharmacology, 53(5), 733–740. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(96\)00773-3](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(96)00773-3)
- Gil, E. & Saldaña, R.** (2020, marzo). Cuantificación de flavonoides y taninos en geles elaborados a base del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Cupressus sempervirens L.* "ciprés", con efecto cicatrizante. [Título profesional, universidad privada Antonio Guillermo Urrelo]. Repositorio Google académico.
- Ginwala, R., Bhavsar, R., Chigbu, D. I., Jain, P., & Khan, Z. K.** (2019). Potential Role of Flavonoids in Treating Chronic Inflammatory Diseases with a Special Focus on the Anti-Inflammatory Activity of Apigenin. Antioxidants (Basel, Switzerland), 8(2), 35.
- González Naranjo, Luis Alonso, & Molina Restrepo, José Fernando.** (2010). Evaluación de la inflamación en el laboratorio. Revista Colombiana de Reumatología, 17(1), 35-47. Retrieved March 28, 2021, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-81232010000100004&lng=en&tlng=es.
- Harraz, F. Hammada, H. El-Hawiet, A. Radwan, M. Wanas, A. Eid, A. ElSohly, M.** (2018). Chemical constituents, Antibacterial and Acetylcholine esterase inhibitory

activity of *Cupressus macrocarpa* leaves. Natural Product Research, 34 (6), 816-822. 10.1080/14786419.2018.1508140

Herrera, Marco Luis. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera, 34(Suppl.), 33-41. Retrieved April 18, 2021, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010&lng=en&tlng=es.

Hidalgo, PJ, Galán, C. & Domínguez, E. (2003). Fenología masculina de tres especies de *Cupressus*: correlación con polen aéreo. Trees 17, 336–344 <https://doi.org/10.1007/s00468-002-0243-x>

Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo (2012, septiembre). *Candida albicans*. DATABIO, 12, 1-4.

Jang, M. H., Lim, S., Han, S. M., Park, H. J., Shin, I., Kim, J. W., Kim, N. J., Lee, J. S., Kim, K. A., & Kim, C. J. (2003). Harpagophytum procumbens suppresses lipopolysaccharide-stimulated expressions of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in fibroblast cell line L929. Journal of pharmacological sciences, 93(3), 367–371. <https://doi.org/10.1254/jphs.93.367>

Khouaja, W. & Oliveira, R. & Raies, A. & Dias, A. (2015, diciembre). Antifungal activity of the essential oils from *Cupressus arizonica* var. *arizonica* and var. *glabra*. INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS, 77, 614-623. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.026>

Kim, H. K., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S., & Kim, H. P. (1998). Amentoflavone, a plant biflavone: a new potential anti-inflammatory agent. Archives of pharmacal research, 21(4), 406–410. <https://doi.org/10.1007/BF02974634>

Kuklinski, Claudia. (2000). Farmacognosia. Ediciones Omega, S.A., Barcelona

Lara, J. Ferreira, R. & de Oliveira, M. (2016). CARACTERÍSTICAS DA *Escherichia coli* ENTEROHEMORRÁGICA (EHEC). SAÚDE & CIÊNCIA EM AÇÃO, (2), 67-76. ISSN: 2447 9330. Recuperado de <http://revistas.unifan.edu.br/index.php/RevistaICS/article/view/191>

Lasa, I., Pozo, J. L. del, Penadés, J. R., & Leiva, J. (2005). Biofilms bacterianos e infección. Anales del Sistema Sanitario de Navarra, 28(2), 163-175. Recuperado en

29 de marzo de 2021, de

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272005000300002&lng=es&tlng=es.

Lim, H., Kim, S. B., Park, H., Chang, H. W., & Kim, H. P. (2009). New anti-inflammatory synthetic biflavonoid with C-C (6-6") linkage: differential effects on cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase. *Archives of pharmacal research*, 32(11), 1525–1531. <https://doi.org/10.1007/s12272-009-2104-2>

Llinares, P., Barberán, J., Montejo, M., Salavert, M., Alvarez-Rocha, L., Maseda, E., ... & Picazo11, J. (2013). Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. *Rev Esp Quimioter*, 26(1), 1-84.

López, I. & García, C. & López, N. (2013). Enfermedades infecciosas y parasitarias en el ámbito escolar: PORTAL REGIONAL DE LA BVS, 16(1), 62-66.

Manimaran, S. & Themozhil, S. & Nanjan, M. & Suresh, B. (2007). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Cone Volatile oil of *Cupressus macrocarpa* Hartwig from Nilgiris, India. *NATURAL PRODUCT SCIENCES*, 13(4), 279-282.

Martínez Abreu, Judit. (2014). Las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes, un tema de interés para todos. *Revista Médica Electrónica*, 36(5), 537-539. Recuperado en 29 de marzo de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242014000500001&lng=es&tlng=es

Merino, J. & Maquieira, C. & Foz, C. & Medrano, R. & Pérez, M. & Fernández, C. & Alonso, J. (2008). Evolución de la resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* en muestras de orina procedentes de la comunidad. *ARCHIVOS ESPAÑOLES DE UROLOGÍA*, 61(7), 776-780

Minga Ochoa, Danilo Cabrera Toral, Luisana Amanda Saquipay Zhagui & Carmita Alexandra. (2014). Contribución al conocimiento del uso de plantas medicinales en la ciudad de Cuenca [Tesis de Licenciatura, Universidad del Azuay]. Repositorio institucional de la universidad de Azuay <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/3593>

- Monrroy OC & Castillo E. P.** (2000). Plantas Medicinales Utilizadas en el Estado de Morelos. Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Mora, J. & Ramírez, Y.** (2014). Alternativas No Tradicionales para el Control del Biofilme Dental. Sustancias Alternativas con acción antibacteriana para el año 2016. [tesis de licenciatura, universidad de Costa Rica]. Repositorio Google académico.
<http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/3512/1/40397.pdf>
- Nabaweya AI, Hesham RES & Magdy MDM.** (2007). Phytochemical investigation and hepatoprotective activity of *Cupressus sempervirens L.* leaves growing in Egypt, Natural Products Research, Vol. 21, No. 10, 857-866.
- Nataro, J. & Kaper, J.** (1998, enero). Diarrheogenic *Escherichia coli*. CLÍNICA MICROBIOLOGY REVIEWS, _11(1), 142-201.
- Nogales, F.** (2006). TEMA 5: Inflamación aguda. Patología Geral para Medicina, 1(1), pp. 62.69, Recuperado en 16 de abril de 2021, de http://eusalud.uninet.edu/apuntes/tema_05.pdf
- Pachón, J. & Cisneros, J. & Collado, A. & Lomas, J. & Lozano de León, F. & Ruiz, J. & Román, A.** (2006). Tratamiento de las infecciones fúngicas invasoras. ENFERMEDADES INFECCIOSAS MICROBIOLOGÍA CLINICA, 24(4), 254-263.
- Pahissa, A.** (2009). Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. (1 ed). Héctor Soler.
- Palli, G.** (2011). Descripción dendrológica y germinativa del ciprés (*cupressus macrocarpa hartweg*) en tres tratamientos en la comunidad de Puerto Acosta, provincia Camacho. [Título profesional, universidad mayor de San Andrés]. Repositorio Google académico.
- Panizo, M. M, & Reviákina, V.** (2001). *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 21(2), 38-45. Recuperado en 29 de marzo de 2021, de

[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562001000200011&lng=es&tlng=es.](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562001000200011&lng=es&tlng=es)

Quintero, C. (2010, agosto). Resistencia de levaduras del género *Candida* al fluconazol. REVISTA INFECTIO, 14(52), 172-180.

R. Taroco, V. Seija, R. Vignoli (s. f.). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. CEFA - Instituto de Higiene, (1), 663-670. Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/bacvir/materiales/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>

Revankar, S. (2019). Candidiasis (invasora). Manual MSD versión para profesionales. <https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/enfermedades-infecciosas/hongos/candidiasis-invasora>

Reyes de Fuentes, Doris, & **Fernández Da Silva**, Rafael. (2014). Antimicrobial activity of leaf extract of zabila (*Aloe vera* L.) in growth of clinical microbes. *Salus*, 18(3), 27-32. Recuperado en 29 de marzo de 2021, de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382014000300006&lng=es&tlng=en.](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382014000300006&lng=es&tlng=en)

Rodríguez Fernández, Zenén, **Fernández López**, Olga, & **irabal Fariñas**, Amparo. (2016). Repercusión socioeconómica de las infecciones posoperatorias. *MEDISAN*, 20(4), 574-577. Recuperado en 28 de marzo de 2021, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192016000400018&lng=es&tlng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192016000400018&lng=es&tlng=es)

Rodríguez-Angeles, Guadalupe. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México*, 44(5), 464-475. Recuperado en 29 de marzo de 2021, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011&lng=es&tlng=es.](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011&lng=es&tlng=es)

Rosa Ángela D. & **Susana** C. (2010). VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE MICRODILUCIÓN PARA LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE PLANTAS (ORTIGA, AJENJO, MALVA OLOSOSA) [Tesis de Licenciatura, universidad de Cuenca]. Repositorio institucional de la Universidad de Cuenca <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2421>

- Rosa, J. & Barros, R. & Santos, M.** (2016, junio-julio). Características da *Escherichia coli* enterohemorrágica. REVISTA ACADÉMICA DO INSTITUTO DE CIENCIAS DA SAUDE, _2(1), 66-78.
- Saad, A. & Mohamed, M. & Ghareeb, M. & Ahmed, W. & Farid, M.** (2017, septiembre). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of the Leaves of *Cupressus macrocarpa* Hartweg. ex Gordon. JOURNAL OF APPLIED PHARMACEUTICAL SCIENCE, 7(09), 207-212.
<https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.70928>
- Salehi, B., Venditti, A., Sharifi-Rad, M., Kręgiel, D., Sharifi-Rad, J., Durazzo, A., Lucarini, M., Santini, A., Souto, E. B., Novellino, E., Antolak, H., Azzini, E., Setzer, W. N., & Martins, N.** (2019). The Therapeutic Potential of Apigenin. International journal of molecular sciences, 20(6), 1305.
<https://doi.org/10.3390/ijms20061305>
- Salinas Sánchez, David O., Arteaga Najera, Gema L., León Rivera, Ismael, Dorado Ramírez, Oscar, Valladares Cisneros, Ma. Guadalupe, & Navarro García, Víctor M.** (2009). Antimicrobial activity of medicinal plants from the Huautla Sierra Biosphere Reserve in Morelos (México). Polibotánica, (28), 213-225. Recuperado 17 abril, 2021, de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=FD6B0D169348629704D68059E2E59EE5?doi=10.1.1.584.9269&rep=rep1&type=pdf>
- Salinas-Sánchez DO, Herrera-Ruiz M, Pérez S, Jiménez-Ferrer E, Zamilpa A.** (2012) Actividad antiinflamatoria del ácido hauriwaico aislado de hojas de *Dodonaea viscosa*. Moléculas (Basilea, Suiza). 17 (4), 4292-4299. DOI: 10,3390 / moléculas17044292.
- Salinas-Sánchez DO, Jiménez-Ferrer E, Sánchez-Sánchez V, et al.** (2017). Actividad antiinflamatoria de una proantocianidina polimérica de *Serjania schiedeana*. Moléculas (Basilea, Suiza). 22 (6). DOI: 10,3390 / moléculas22060863.
- Sánchez Merino, J.M., Guillán Maquieira, C., Fuster Foz, C., Madrid García, F.J., Jiménez Rodríguez, M., & García Alonso, J.** (2003). Sensibilidad microbiana de *escherichia coli* en infecciones urinarias extrahospitalarias. Actas Urológicas Españolas, 27(10), 783-787. Recuperado en 15 de abril de 2021, de

[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0210-48062003001000003&lng=es&tlng=es.](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0210-48062003001000003&lng=es&tlng=es)

- Sánchez, D. S., Najera, G. L. A., Rivera, I. L., Dorado, O., Cisneros, M. G. V., & García, M. N.** (2009). Antimicrobial activity of medicinal plants from the Huautla Sierra Biosphere Reserve in Morelos (México). *Polibotánica*, (28), 213-225.
- Sánchez, J. M. Guillan, C. Fuster, C. López, R. González, M. Raya, C. et al.** (2008). Evolución de la resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* en muestras de orina procedentes de la comunidad. *Arch Esp Urol*, 61(7), 776-780.
- Sánchez, S. & Martínez, R. & Alonso, J. & Rey, J.** (2010). Aspectos clínicos y patogénicos de las infecciones por *Escherichia coli* O157:H7 y otros *E. coli* verotoxigénicos Clinical and pathogenic aspects of infections due to *Escherichia coli* O157:H7 and other verocytotoxigenic *E. coli*. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 28(6), 370-374.
- Sayed, E. & Gad, H. & Shazly, M. & Abdel, M. & Singab, A.** (2017, noviembre). Anti-inflammatory and analgesic activities of cupressuflavone from *Cupressus macrocarpa*: Impact on pro-inflammatory mediators. *INVESTIGACIÓN EN DESARROLLO DE FÁRMACOS*, 78(1), 22-28.
<https://doi.org/10.1002/ddr.21417>
- Sayed, E. & Ke, T. & Hwang, T. & Chen, S. & Korinek, M. & Chen, S. & Cheng, Y.** (2020, Mayo). Cytotoxic and anti-inflammatory effects of lignans and diterpenes from *Cupressus macrocarpa*. *BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS*, 30, 127-127. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127127>
- Secretaría de Salud** (2018). La resistencia a los antimicrobianos amenaza la efectividad de los tratamientos. Gobierno de México. Recuperado de: <https://www.gob.mx/salud/articulos/mexico-contr-la-resistencia-a-los-antimicrobianos>
- Sudbery, P.** (2011). Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews Microbiology*, 9(1), 737-748. 10.1038/nrmicro2636
- Thukral, S.K.; Singh, S.; Sharma, S.K.** Pharmacognostical standardization of leaves of *Cupressus macrocarpa* Hartweg. ex Gordon. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2014, 4, 71-74

Torres Jiménez, Israel Bernardo, & Quintana Cárdenes, Ignacio José. (2004). Análisis comparativo sobre el empleo de plantas medicinales en la medicina tradicional de Cuba e Islas Canarias. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 9(1) Recuperado en 16 de abril de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000100012&lng=es&tlng=en.

Villalba Herrera, Ericka Wendie. (2014). INFLAMACION I. *Rev. Act. Clin. Med*, v.43, pp. 2261-2265, Recuperado en 16 de abril de 2021, de http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014000400004&lng=es&nrm=iso

Wendie, V. H. E. (2004). Inflamación I. *Revista de actualización clínica*, 43(1), 2261-2264.

White Olascoaga, Laura. (septiembre 2016). Cupressaceae [Diapositivas de PowerPoint]. Recuperado 15 abril, 2021, de <http://ri.uaemex.mx/bitstream/20.500.11799/64223/1/secme-14387.pptx>

Zamudio, S. & Carranza, E. (1994, septiembre). Cupressaceae. *FLORA DEL BAJÍO Y DE REGIONES ADYACENTES*, (f 29). 1-20.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



El Jicarero, Jojutla, Morelos, 28 de abril del 2023

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
PRESENTE.

Por este conducto comunico a usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Licenciado en Biología: **C. Reyes Sánchez Erika Viridiana**, con la modalidad **Tesis Profesional Por Etapas (ART. 26°)** con el título del trabajo: **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIINFLAMATORIA DE EXTRACTOS AISLADOS DE LAS PARTES AÉREAS DE *Cupressus macrocarpa***

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI

VOTO EN CONTRA: _____

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: _____

COMENTARIOS: _____

FIRMA

DR. JUAN MANUEL RIVAS GONZÁLEZ
M. EN C. HUMBERTO FLORES BUSTAMANTE
DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ
M. EN M.M. ISAURA QUINTANA PADILLA
BIÓL. JOSÉ ERNESTO GASPAR DOMÍNGUEZ
DRA. MA. DOLORES PÉREZ GARCÍA
DR. MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MA. DOLORES PÉREZ GARCÍA | Fecha:2023-05-08 15:09:20 | Firmante

O1ZawPc4Hk66p33dtnkiiYPqQ9SFRKSGSL7AetRG+4XzDPmG8c7ZAoVPHroz5ein+qhBng4zOozPyl0KA8NoKISYOjt9Sh+SuP7+CYOUUWJMEAovKA9kqqPcoYaXQfL8OFX2xbgzF56tvQTmwwkBl8gHpZ5ekUDuV5fW8qyy0CX7DPWWlco4HVmby8kqrdLVwB8EZWzoe0JP7XnQTYdAougU2q9fH+DuaPP8NRNoQsYMS67DAjDuZxXqG3hbp2AwtVvmy82frw5lHfrBBAXh+LhR2BaxypqmyUeqbanA1Syl+VzZRP0DdH2zrb/P5q3Ej1ptvLgwSmvsGG8esavSjQ==

JOSE ERNESTO GASPAR DOMINGUEZ | Fecha:2023-05-08 15:10:59 | Firmante

xyk06w64V38cDbzyoy9MgUAAy2iWc3E99eefxgtdX8Wn/acxknVb71WTggr+Udy7g5UMAKe6fsd6hgahfKINEGMvoCQ0hoCvp4MJ+C0VTKEPczLQYeyG26HyR2IKyT30WB+fl4zgS7+QxHcjsc5ghGFT/qS9+ITSzoXfw27QOqyFYeXV/xXkDkZR Xgt3fV/PfiPNyVidkFJ52BryW+/h+sn98phxj+rd5hB/m5S5ktz2lckfn3zS6L3HKRm69u4xw0mkh3S2jaUbRj02y13DCQ85pcWf+yRC4KRTZp7KXSPycbS1usPtZZafgM91mJHxm0JnDA45YiVSlwnIEfAQ==

ISAURA QUINTANA PADILLA | Fecha:2023-05-08 16:53:34 | Firmante

Oqn20RwH+5zHD8GVpP4BIXH9qccRZ6arkY6gtDEUivWNeElvgrMO1J8Orr4A6Vgmq6vgD4KM7d5+9bzJKdCpVzshZnNICuOs+KPLUV3dU4fgaMwenJnyMgQa8WJsHmXCs4ov6SG0u6Jn9VBF50q9rLo+6ldmvh1dUZoqmnI51vDxQhcZwLinzq5by5V4hE4YPK9upxmA6QA4un88vQzlvapThcEbrqF5FAipC+mhzopXdSwhotzEvpCwHsC9xkQ3NffTOKQMCB8Q9XTMDZhQYnZpxBNT3oOYrGL+7IAsmjklkZKgKdCxYhtntI2DeTqLZEpeCQ==

DAVID OSVALDO SALINAS SANCHEZ | Fecha:2023-05-08 17:03:34 | Firmante

0ANHvax+2WytOb8JkzmJtJKBERkBJkG2k+E9MXXwITjXh40yLmIJOxSqxoe6IREA2HFRiJvly35k2KcNj6UxM6qRI+QIWehDzSo39XdOFzWCO83qX48JxYxLDTEllyl8wvpjzzzmz/klW5CkjtVdioLhqYjprlLgVdLg9K35F7IC4Xytf9DQ6joMZBge3VcSGwuel0akfsZshkKdUC1FNTahXQ2sXQuY9G9cOocXAK5oiV0alBboMo8t0xXJsPFOVo+NN50zGRKHL/iGDUGm5izDZaubpt2jALv/Reo/LYVMb2Mu+f/o4Fau1lifiZo0uCSVubSSj8C/rbslg==

JUAN MANUEL RIVAS GONZALEZ | Fecha:2023-05-09 08:07:35 | Firmante

gqmPqvzKARcSk7Z8hiQadTce051xRIBGrMKj1cR7/S6NKghqyz7ihY6ckWqcXV0QKyFL1E5wTyWJpOrKEb5dXfOuaWbSkk0b2QQXC8qXPUKcnj3fPjbmYDx1dshCM8LjqBqCdO1t+IPidHidVCWYR15jpd4aRDJzdqa/dqM9Ctux6J7oUhAzl0g+xwUQKn/zFDiMoL5SViKesiSRkvFiiKApcoLurKDSi9mqWhTzk8gayRjtu44x9gWJ7V12unn5xHr8cEDo39WmdVDhNe4Nvdck/nI5JHKNUquc16789N3tiA0RgUglu/LT9DBdYIEQA7Y1+d//3Wleq2dNWcbw==

MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR | Fecha:2023-05-09 08:32:22 | Firmante

dK5b0j6wYbX+X2Wkt4VtogYFks7waiantMnXH8ds8Fsm9elfEKKmwct+eFDYOFMI6NTYOOQ19gVxAybVX/YkhjW/3NRrKdRgvu1BPTbeokj73KMqjDvtnZwgxY/AQegPIExL7rBrHWqR4ZEVDgDiq8kf+ODnTC6X48zySc63tlBCGptbCuPQZ9eG2nH1g07e+uJs0cPmYloVuNAG8F65PayUOGGnSjlbNTQdILT2cveZDY0o+he8iUMiFt0sYlaaCYWmso26rz7CR/hPp5tZK3TuQkDrgEwXe+kr3EIObClDgyabyCZMzsWcUzpmRRRnBw683RETowlyhZanpmIYA==

HUMBERTO FLORES BUSTAMANTE | Fecha:2023-05-09 09:33:59 | Firmante

eOJt8NCO6srctvGABEovuwigY0eptZJt6oTxbQ7ej7jzKrlcoZHgkETuHrCdIPg1HSzq3wSaVkg2rdt4ow7m4ausC4+YbBweBX2kh0XmeOWTBrVx55WEq+zNNbSG7PFLKX833HucnmiAMcG4M5GwLfc417Xzpgf61VUBKwXkd6bGWhlUdFDMVtiGJnPRJ9prK/bkzG6+utczJ10eKoc98Xyliw/ERt6YzPP+GyKE+ipCFblQ2NLEuTyCeZKoPJ8ZLcbAVPC5nlBs54c0l62Uo6geq6Bi75dcYaul7WM5i+6h1JFvsZo4Ar89ZoCdKUYJKXhfrzW+lvGUBFjd3fLg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



OlcTtFh5a

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/62zfSsd4UwQu5zSf7kYuuK27RKFQD2ia>

