



Universidad Michoacana de San Nicolás
Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera



Maestría en Ciencias y Tecnología de la Madera

“Evaluación de la actividad antioxidante, citotóxica y antimicrobiana de los extractos crudos proveniente de duramen de *Cedrela Odorata*”

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRA EN CIENCIAS Y
TECNOLOGIA DE LA MADERA

Presenta:

LBT. Rosa Isela González Raya

Director de tesis:

D.C. Crisanto Velázquez Becerra

Co-director:

D.C. Josué Altamirano Hernández

Morelia, Michoacán, septiembre 2023

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1 Composición química de la madera.....	5
2.1.1 Estructura de la madera.....	5
2.2 Sustancias extraíbles.....	6
2.2.1 Actividad biológica.....	7
2.2.2 Control biológico.....	9
2.3 <i>Cedrela odorata</i> L.	10
2.3.1 Generalidades.....	10
2.3.2 Usos etnomedicinales.....	11
2.3.3 Actividad biológica.....	12
2.3.5 Compuestos Químicos.....	12
2.3.5.1 Ácido alifático y alcohol.....	13
2.3.5.2 Flavonoides.....	13
2.3.5.3 Tocoferol.....	14
2.3.5.4 Terpenos.....	14
2.3.5.4.1 Monoterpenos.....	14
2.3.5.4.2 Sesquiterpenos.....	15
2.3.5.5 Triterpenoides.....	18
2.3.5.5.1 Triterpenos.....	18
3. JUSTIFICACIÓN.....	19
4. OBJETIVOS.....	20
4.1 Objetivo General.....	20
4.2 Objetivos particulares.....	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
5.1 Material Biológico.....	21
5.1.1 Reactivación del material biológico.....	21
5.1.2 Obtención de los extractos para cada solvente.....	22
5.2 Cuantificación de fenoles.....	23
5.3 Determinación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i>	23

5.4 Determinación de la actividad antioxidante de los extractos por el método de DPPH ⁻	23
5.5 Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos por el método ABTS ⁺	23
5.6 Evaluación del poder antioxidante reductor de Hierro (FRAP) de los extractos	24
5.7 Efecto tóxico de extractos crudos de <i>C. odorata</i> en el modelo <i>A. salina</i>	25
5.7.1 Crecimiento de <i>A. salina</i>	25
5.7.2 Determinación de CL ₅₀	25
5.8 Actividad antioxidante <i>in vivo</i>	26
5.8.1 Estrés oxidativo causado con Peróxido de Hidrógeno (H ₂ O ₂) en el modelo biológico <i>C. elegans</i>	26
5.9 Actividad antimicrobiana de los extractos.....	26
5.9.1 Preparación del inóculo	26
Tabla 4. Cepas utilizadas para la prueba antimicrobiana; como se muestra en las tablas, se utilizarán hongos patógenos de plantas.	26
5.9.2 Siembra de la muestra	27
5.9.3 Técnica de sensidisco.....	27
5.9.4 Medición de los halos de inhibición	27
6. Análisis estadístico.....	28
Tabla ii. Pruebas estadísticas realizadas en cada uno de los ensayos, (x) indica la prueba que será aplicada a cada ensayo.	28
7. RESULTADOS	29
7.1 Obtención de los extractos para cada solvente.	29
7.1.1 Contenido de extraíbles en <i>C. odorata</i> L y su total de extraíbles.	29
Tabla ii. Porcentaje de extraíbles para cada solvente obtenido a partir del duramen de <i>C. odorata</i> y su contenido total de extraíbles. Cantidades obtenidas por 12.327 g de harina.....	29
7.1.2 Características de los extractos obtenidos	29
7.2 Experimentos <i>in vitro</i>	31
7.2.1 Cuantificación de fenoles totales por medio de Folin-Ciocalteu (FOLIN)..	31
7.4 Experimentos <i>in vivo</i>	36
7.4.1 Efecto tóxico del extracto acuoso de <i>C. odorata</i> en el modelo <i>A. salina</i>	36
7.4.2 Efecto tóxico del extracto metanólico de <i>C. odorata</i> por medio del cálculo de la concentración letal 50 en el modelo <i>A. salina</i>	37
7.4.3 Efecto tóxico del extracto hexánico de <i>C. odorata</i> por medio del cálculo de la concentración letal 50 en el modelo <i>A. salina</i>	38

9. BIBLIOGRAFÍA.....49

RESUMEN

La madera es un producto natural de características anisotrópicas de olor particularmente agradable, formado por compuestos estructurales principales de polisacáridos (celulosa, hemicelulosas y lignina) que contienen una amplia gama de extractos y químicos orgánicos de bajo peso molecular. Recientemente, la biomasa leñosa ha atraído la atención en diversos estudios como una fuente potencial de fitoquímicos bioactivos, también conocidos como extractivos, se forman por el metabolismo secundario de las plantas, son un grupo de compuestos químicos constituidos por ácidos grasos, alcoholes grasos, ácidos resínicos, terpenos, fenoles, taninos, esteroides, alcaloides, grasas y ceras, particularmente, los compuestos fenólicos desempeñan un papel importante en los mecanismos de defensa y protección que ocurren en la madera de los árboles. Se consideran como fitoquímicos con aplicaciones potenciales. Por esta razón, este trabajo muestra la actividad antioxidante, antimicrobiana y citotóxica de los extractos crudos provenientes del duramen de *C. odorata* para escrutar su efecto biológico.

Palabras clave: *Cedrela odorata*, extracto, antioxidante, antimicrobiana, citotóxica, duramen.

ABSTRACT

Wood is a naturally occurring product with anisotropic characteristics and a particularly pleasant odor. It is formed by major structural compounds of polysaccharides (cellulose, hemicelluloses, and lignin) containing a wide range of extracts and low-molecular-weight organic chemicals. Recently, woody biomass has garnered attention in various studies as a potential source of bioactive phytochemicals, also known as extractives. These are formed through the secondary metabolism of plants and encompass a group of chemical compounds consisting of fatty acids, fatty alcohols, resin acids, terpenes, phenols, tannins, steroids, alkaloids, fats, and waxes. Particularly, phenolic compounds play a significant role in the defense and protection mechanisms occurring in the wood of trees. They are considered phytochemicals with potential applications. For this reason, this study presents the antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of crude extracts from the heartwood of *C. odorata* to investigate their biological effects.

1. INTRODUCCIÓN

La madera es un producto natural y un material anisotrópico de olor agradable, formado por compuestos estructurales principales de polisacáridos (celulosa, hemicelulosas y lignina) que contienen una amplia gama de extractos y químicos orgánicos de bajo peso molecular (Adamová *et al.*, 2020). Recientemente, la biomasa leñosa ha atraído la atención científica en la que es tratada como una fuente potencial de fitoquímicos bioactivos, también conocidos como extractivos (Vek *et al.*, 2021)

Los extractivos o también llamadas **sustancias extraíbles** las cuales se forman por el metabolismo secundario de las plantas, son un grupo de compuestos químicos constituidos por ácidos grasos, alcoholes grasos, ácidos resínicos, terpenos, fenoles, taninos, esteroides, alcaloides, grasas y ceras, los compuestos fenólicos juegan un papel importante en los mecanismos de defensa y protección que ocurren en la madera de los árboles, en general, los polifenoles tienen tres funciones defensivas: como biocidas, captadores de radicales y quelantes de metales, además muestran propiedades antifúngicas, antimicrobianas y antioxidantes, los extractivos se tratan como fitoquímicos con aplicaciones potenciales, por ejemplo, como agentes bioactivos en formulaciones para la conservación de la madera, la protección de alimentos o incluso con fines terapéuticos; otro ejemplo de estos compuestos son los lignanos los cuales han sido reportados como compuestos con alta potencia antioxidante y capacidad de eliminación de radicales, además algunos extractos de madera se utilizan en varios productos médicos y la industria del perfume (Vek *et al.*, 2021). La evaluación del efecto citotóxico de extractos constituye, además, un paso primordial en el dimensionamiento de sustancias prometedoras para el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas (Téllez *et al.*, 2006).

El estudio etnobotánico es una disciplina que revela la profunda interacción entre las plantas y las culturas humanas (Balick & Cox, 2021), a través de la investigación se ha convertido en una actividad importante en el área del desarrollo de fármacos puesto que, las plantas medicinales se han utilizado durante muchos siglos no solo en las zonas rurales sino también cada vez más por los ciudadanos urbanos, tanto en países en desarrollo como en los desarrollados, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), aproximadamente el 80%

de las poblaciones de todo el mundo dependen de las hierbas medicinales para sus necesidades de atención médica (Renchuan *et al.*, 2020).

El cedro rojo (*Cedrela odorata*) es una especie arbórea de gran importancia, no solo en la industria maderera sino también en la medicina tradicional, siendo un miembro neotropical de la familia de las maderas duras, sus componentes, como los aceites esenciales y los triterpenoides, han sido objeto de investigación debido a sus posibles propiedades medicinales. Se ha descubierto que algunos de estos compuestos tienen propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes, lo que sugiere su potencial utilidad en la medicina herbal. Además, el cedro rojo ha sido utilizado históricamente en diversas culturas para tratar una variedad de dolencias. Sin embargo, es importante destacar que se necesita más investigación para comprender completamente sus beneficios medicinales y garantizar su uso sostenible (González, 2019). Estudios realizados sobre la composición química de *C. odorata* han sido orientados a determinar e identificar la cantidad de extractivos que contiene. Por esta razón, en el presente trabajo se evaluó la actividad antioxidante, antimicrobiana y citotóxica de los extractos crudos provenientes de *C. odorata* para escudriñar su efecto biológico.

2. ANTECEDENTES

2.1 Composición química de la madera

La madera es un material anisotrópico encontrado como principal contenido del tronco de un árbol, los árboles se caracterizan por tener troncos que crecen cada año, están compuestos por fibras de celulosa unidas con lignina, es un material muy resistente. En general, su composición presenta un 50% de carbono (C), un 42% de oxígeno (O), un 6% de hidrogeno (H) y el 2% de nitrógeno (N) y otros elementos. Todo esto se compone formando la celulosa, hemicelulosa y la lignina. La celulosa es un polisacárido estructural formado por glucosa que forma parte de la pared celular, constituye la estructura resistente de los vegetales, la hemicelulosa es un heteropolisacárido, formado por un conjunto heterogéneo de polisacáridos está forma parte de la sustancia de soporte y estructural de la pared celular, la lignina es una clase de polímeros orgánicos complejos la cual proporciona la rigidez y dureza de la madera. Dentro de la madera, los rangos comúnmente encontrados son: Celulosa 38-50%, hemicelulosa 23-32% y lignina 15-25%. (Ávila-Calderón & Rutiaga-Quñones, 2014).

2.1.1 Estructura de la madera

A través de un corte transversal del tronco, permite apreciar la estructura interior del árbol que está formada por las siguientes partes: Corteza: Es una capa impermeable la cual recubre el árbol protegiéndolo de agentes atmosféricos exteriores. Cambium: Está constituida por células alargadas, que se transforman en nuevas células, las de la zona interior de madera nueva (xilema) y las de la cara externa de líber (floema) es la zona encargada del crecimiento y desarrollo del árbol. Albura: Es la madera joven del árbol y está irrigada por mayor cantidad de savia, lo que la hace más vulnerable a la carcoma. Con el tiempo se convierte en madera más dura. Duramen: Es la madera con dureza y consistencia, formada por tejidos que han alcanzado su total desarrollo procedentes de la transformación de la albura, muchas especies que presentan una transición abrupta albura-duramen poseen una particular bio-resistencia química al deterioro por acción de hongos, bacterias y ataque de insectos, tal resistencia se encuentra atribuida a la presencia de sustancias activas las cuales desempeñan un papel importante en la durabilidad natural, ya que proporcionan propiedades fungicidas, fungistáticas, quelantes y antioxidantes que eliminan o inhiben la actividad enzimática, el

crecimiento y desarrollo de los agentes xilófagos, estas sustancias son llamados metabolitos secundarios o extractivos que son generados por el metabolismo secundario de las plantas, las cuales abarcan una serie de compuestos químicos, como alcaloides, flavonoides, terpenos, terpenoides, estilbenos, lignanos, quinonas y otros compuestos fenólicos (Velásquez & Encinas, 2019).

2.2 Sustancias extraíbles

Las sustancias extraíbles formadas por el metabolismo secundario de las plantas, son determinantes importantes en la calidad sensorial y nutricional de frutas, verduras y otras plantas. Varios estudios han demostrado que estas sustancias son los principales fitoquímicos bioactivos que confieren beneficios para la salud humana, se ha informado de una relación directa entre la actividad antioxidante y el contenido fenólico de numerosas semillas, frutas y verduras (Almonte-Flores *et al.*, 2015). Estos metabolitos secundarios o extractivos abarcan una serie de compuestos químicos como alcaloides, flavonoides, terpenos, terpenoides, estilbenos, lignanos, quinonas y otros compuestos fenólicos, los cuales, además de contribuir como mecanismo de defensa, son responsables de las propiedades organolépticas de la madera en cada especie (Velásquez *et al.*, 2019).

Los extractivos son un grupo de compuestos químicos de la madera que se pueden extraer con solventes polares y no polares, estos componentes se encuentran en los lúmenes de las células, en los intersticios de la pared celular o en las cavidades intercelulares, constituyen 4 al 10% del peso anhidro de madera normal de especies que crecen en climas templados y en más del 20% en madera de especies tropicales (Rowell, 1984; Ávila, L & Herrera, M., 2012). Los extractivos que forman este grupo son: Compuestos fenólicos, los cuales son un grupo químicamente heterogéneo y se caracterizan por tener uno o varios fenoles (Taiz y Zeiger, 2002), existe una gran variedad de estos compuestos, entre ellos: los fenoles simples, los ácidos fenólicos, los flavonoides que poseen 2 subunidades fenólicas, los taninos que tienen 3 subunidades fenólicas o más, entre otros (Esquivel-Gutiérrez *et al.* 2013). Estos compuestos participan en la fisiología vegetal (Valencia-Avilés *et al.*, 2017), son componentes sometidos a una frecuente investigación debido a sus diversas funciones como asimilación de nutrientes, síntesis proteica, actividad enzimática, entre otras (Manach *et al.*, 2004; Valencia-Áviles *et al.*, 2017), además de estas funciones, los compuestos fenólicos son reconocidos por su remarcada capacidad antioxidante (Sinkireddy *et al.*, 2013; Gómez *et al.*, 2016). Los

antioxidantes son captadores de radicales que protegen al cuerpo humano contra los radicales libres que pueden causar afecciones patológicas como isquemia, artritis y envejecimiento, en la actualidad, los materiales vegetales son un recurso importante para combatir enfermedades, por lo que existe un interés creciente por los antioxidantes naturales de fuentes de hierbas (Rashed, 2014), Estos compuestos son de gran interés por sus efectos biológicos que son beneficiosos encontrados en las plantas y son reconocidos por su uso potencial en la prevención y tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas (Rosales-Castro *et al.*, 2016).

2.2.1 Actividad biológica

En México, a partir de la última década se han iniciado investigaciones para evaluar el efecto terapéutico de plantas y árboles medicinales endémicos, para el tratamiento de afecciones como *diabetes mellitus*, hipertensión, cáncer entre otros, lo que indica la importancia de los compuestos naturales con actividad biológica (Esquivel-Gutiérrez *et al.*, 2013).

Mas allá de sus propiedades de captar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno de importancia en la patogénesis de enfermedades, los compuestos fenólicos pueden actuar en numerosas vías de señalización intracelulares como mediadores, lo que los convierte en moléculas muy interesantes para el desarrollo de nuevos productos (Rodrigo-García *et al.*, 2016). Adicionalmente, a la capacidad antioxidante de estos compuestos, se les atribuyen propiedades antiinflamatorias (Moreno-Jiménez *et al.*, 2015), antialérgica, antitrombóticas, antimicrobianas, antineoplásicas y anticancerígenas (Van *et al.*, 2012; Palacios *et al.*, 2011). De manera general, los compuestos fenólicos han sido clasificados en dos grandes grupos: flavonoides (F) y no flavonoides. En el grupo de los F, se encuentran los flavonoles (FN), flavonas (FAS), flavan-3-ols, isoflavonas (IF), flavanonas (FNA), dihidroflavonoles (DHF), antocianidinas y chalconas. Mientras que en el grupo de no F están los ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, polifenoles volátiles, estilbenos y compuestos diversos (lignanos y cumarinas) (Goncalves *et al.*, 2013). Estos compuestos presentan propiedades asociadas a una disminución en la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Ignat, 2011). Además, el grado de solubilidad es otro factor tomado en cuenta para la clasificación de estos compuestos, los compuestos solubles en agua son los ácidos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides y quinonas, por otro lado, se encuentran los compuestos

insolubles en agua, tales como los taninos condensados, ligninas y ácidos hidroxicinámicos, los cuales se encuentran unidos a la pared celular de las células vegetales (Haminiuk *et al.*, 2012). Además, en otros estudios se ha demostrado que los compuestos fenólicos tienen, impacto sobre la resistencia de las membranas microbianas interfiriendo en el metabolismo microbiano, entre otros posibles mecanismos de acción, que retardan o inhiben el crecimiento de los microorganismos (Nychas, 2005; Kabara, 2005), Monsalve-Paredes y Bello-Alarcón (2020) evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos de diferentes polaridades obtenidos de la corteza, generada en la industria maderera de la Teca en los cuales emplearon el método de extracción por Soxhlet, determinaron las sustancias extraíbles y sus rendimientos, los resultados mostraron que el extracto etéreo presenta un rendimiento considerablemente mayor con un valor del 69%, sugiriendo que la composición de la Teca esta formada principalmente por compuestos apolares, incluyendo resinas y otras sustancias presentes en la corteza (Monsalve-Paredes & Bello-Alarcón, 2020).

Hernández y Uramis (2008), evaluaron la actividad antimicrobiana *in vitro* de extractos de diferentes especies de madera, las cuales fueron *Tectona grandis* L. f. (teca), *Bursera simaruba* (L.) Sarg. (almácigo) y *Cedrela odorata* L. (cedro), por lo que sus resultados fueron que 5 de los 7 extractos alcohólicos preparados presentaron actividad antimicrobiana. El porcentaje de bacterias sensibles varió entre 12,5 y 50%. No se encontró actividad antifúngica frente a ninguna de las cepas de levaduras utilizadas. De los 5 extractos activos, 3 presentaron actividad bacteriostática y bactericida, mientras que el resto solo presentó actividad bacteriostática, además los extractos activos solo presentaron actividad antimicrobiana frente a las Gram positivas y los mejores resultados correspondieron a los extractos de follaje y corteza de teca, corteza de almácigo y madera de cedro (Hernández & Uramis, 2008).

El estudio de compuestos fenólicos, particularmente flavonoides, se ha visto positivamente correlacionados con la capacidad para eliminar radicales libres e inhibir enzimas prooxidantes (Auberval *et al.*, 2015), además se ha reportado que extractos de estos compuestos inhiben las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Pradal *et al.*, 2016), mientras que estudios epidemiológicos, han sugerido que la ingesta de fitoquímicos y en particular polifenoles está asociada con la disminución de enfermedades incluyendo las cardiovasculares, el cáncer y las neurodegenerativas (Angeloni *et al.*, 2015).

Otro de los estudios sobre estos compuestos; son estudios toxicológicos que se definen como el conjunto de ensayos realizados a una sustancia o mezcla de sustancias químicas en animales de experimentación o *in vitro*, estos estudios son diseñados para obtener la información necesaria para conocer el perfil toxicológico de la sustancia en estudio, de manera que en el caso de desarrollo de moléculas para consumo humano, puedan justificar más estudios sin exponer a los seres humanos a riesgos injustificados (Ramírez, & Soto, 2013), para el desarrollo de nuevos fármacos, alimentos o sustancias para consumo humano es imprescindible evaluar el potencial tóxico de las moléculas a explorar mediante diversos modelos experimentales (Gamez, 2013), la toxicidad de las sustancias puede observarse a través de: a) el estudio de su exposición accidental; b) el estudio de su impacto *in vitro* utilizando células/líneas celulares; c) el estudio de su impacto *in vivo* en animales de experimentación (Parasuraman, 2011), durante décadas diferentes investigadores han realizado estudios para evaluar la toxicidad de diferentes compuestos por ejemplo; en 2015, Soto y colaboradores evaluaron la toxicidad de la infusión de las hojas de chaya orgánica, obteniendo como resultado de dicha infusión, administrada en larvas de *A. salina* una DL50 de 1070.42 µg/ml. En base a estos resultados se llegó a la conclusión, de que el extracto no es tóxico y es seguro para el consumo como agente terapéutico en el tratamiento de la *diabetes mellitus*; en un ensayo de letalidad en *A. salina* se demostró que los extractos hidroalcohólicos de las hojas de naranjo dulce (*Citrus aurantium* L. var. *sinensis* L.), naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.), limón criollo (*Citrus aurantiifolia* Swingle), lima persa (*Citrus latifolia* (Tanaka ex) y mandarina (*Citrus reticulata* Blanco), todos ricos en polifenoles, presentaron cierta toxicidad dependiendo de la concentración, resultando ser no tóxicos a concentraciones menores de 10 µg/ml. Sin embargo, se presentó toxicidad moderada a concentraciones entre 100 y 1000 µg/ml (Soto *et al.*, 2015). En otra investigación se demostró que el extracto metanólico de limón criollo (*Citrus lime aurantiifolia*) poseía un valor de CL₅₀ de 74,78 µg/ml (Ramos *et al.*, 2012).

2.2.2 Control biológico

El uso recurrente de pesticidas en sistemas de producción agrícola, además de generar resistencia en plagas, daños a la salud humana y al medio ambiente, puede provocar un desequilibrio ecológico, y como alternativa para este problema es el uso de productos

naturales derivado de plantas, generalmente biodegradables que no producen un desequilibrio en los ecosistemas, por lo que utilizar extractos vegetales es una medida de controlar y eliminar las plagas de cultivos, normalmente este tipo de protectores naturales son mezclas de compuestos biológicamente activos y no desarrollan resistencia en plagas. Se han realizado estudios en México, sobre compuestos fitoquímicos en el control de plagas de insectos (Zelaya-Molina *et al.*, 2022), Pérez-Torrez *et. al* en 2017, utilizaron extractos acuosos de *Ricinus communis* con *Capsicum frutescens*, alternados con jabón resultaron efectivos para proteger el cultivo de amaranto de daños por plaga al reducir la infestación en 39.7% e incrementar la producción 87%; también Orozco-Santos *et. al* en 2016 indicaron que los extractos de neem, ajo y cebolla redujeron de forma significativa ninfas de *Diaphorina citri* en lima mexicana.

2.3 *Cedrela odorata* L.

2.3.1 Generalidades

Cedrela odorata L., conocida como cedro rojo, pertenece a la familia *Meliaceae*, esta especie se presenta en los bosques naturales de zonas de vida bosque húmedo tropical, bosque húmedo subtropical y bosque seco tropical (figura 1), tiene un rango altitudinal que varía entre 0 y 1200 m y tolera una amplia gama de condiciones climáticas, conocido por su madera roja resistente a la putrefacción, se distribuye en el continente americano desde el norte de México hasta el norte de Argentina, en México se distribuye en el Pacífico, desde el sur de Sinaloa hasta Guerrero y la Depresión Central y Costa de Chiapas, mientras que en el Golfo desde el sur de Tamaulipas hasta la Península de Yucatán (Hernández *et al.*, 2018), es una especie de mayor valor económico por que la madera se utiliza principalmente para la fabricación de muebles de calidad, constituyendo uno de los pilares de la producción forestal de maderas preciosas en México al igual que la caoba, la madera proveniente de este árbol es fácil de trabajar, tiene un olor o fragancia característica. Debido a su valor económico, esta especie ha sido severamente afectada por la selección disgénica y deforestación (Sánchez *et al.*, 2003; Velázquez, 2010; Martínez-Vento *et al.*, 2010), por esta razón se han emprendido acciones de conservación y mejoramiento genético de esta especie. Aunque el producto principal de cedro rojo es la madera aserrada, también se generan residuos como ramas y hojas que provienen de aclareos y podas, así como aserrín, sin valor comercial aparente, estos residuos forestales pueden ser utilizados de forma ecológica y económica, en la producción

para obtener productos de alta demanda en la industria farmacéutica, química, cosmética y el sector agrícola (Rosales-Castro *et al.*, 2016).

La cultura Maya y los primeros colonizadores utilizaron la madera de este árbol para la fabricación de canoas y casas, ya que esta no es atacada por la polilla ni por las termitas, además también es utilizada para la fabricación de muebles de lujo, chapa plano decorativas, gabinetes de primera clase, molduras y paneles, producción de pulpa para papel, entre otros (Morales y Herrera, 2009).

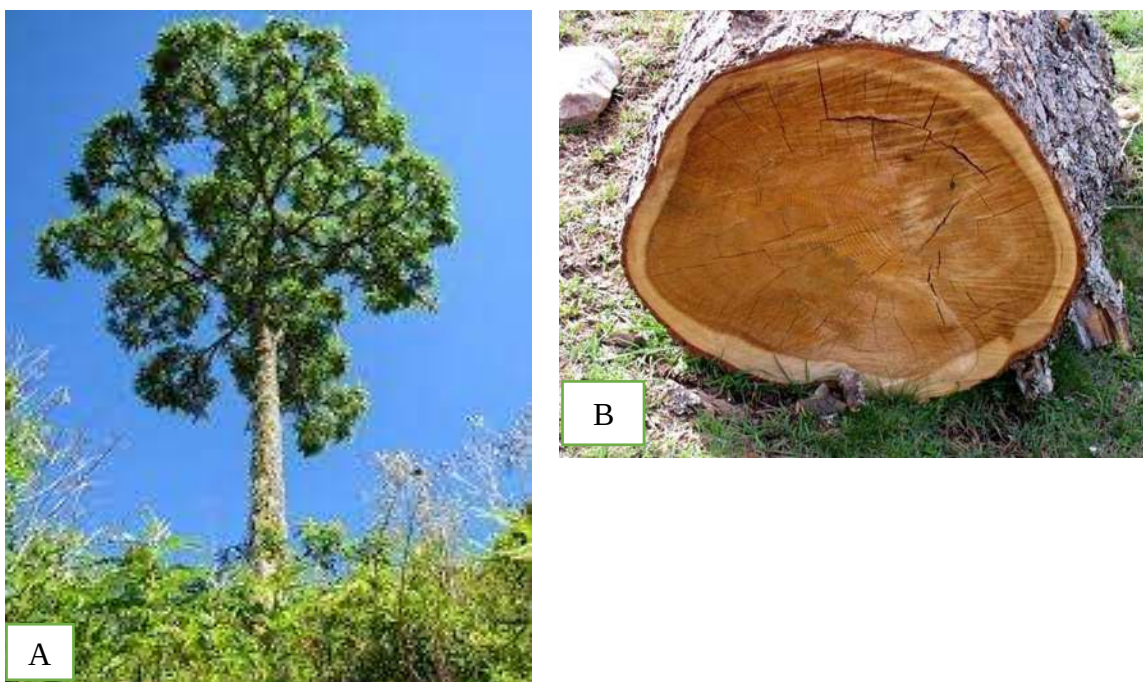


Figura 1. A) *Cedrela odorata* localizada en bosques húmedo tropical, subtropical y seco tropical; B) Tronco de cedro rojo, corteza, albura y duramen.

2.3.2 Usos etnomedicinales

Los usos tradicionales del cedro rojo, incluyen tratamiento de heridas, erupciones cutáneas, como emético, inflamaciones generales, hemorragias, hemorroides, leucorrea, malaria, como agente antiulceroso y espasmolítico, entre otros. La corteza de la raíz y el tronco se utilizan para reducir la fiebre y el dolor; el tronco se cosecha para preparar una decocción para abortos y se cree que las semillas tienen propiedades vermífugas, las propiedades antifúngicas,

antibacterianas, antipalúdicas, antitripanosómicas han sido documentadas en algunos estudios (Giordani *et al.*, 2015). En algunos lugares del continente africano, la decocción de la corteza se usa para curar la malaria y/o la fiebre, además estudios han demostrado que la planta posee actividad antialimentaria y toxicidad contra insectos (Akinbuluma, 2020).

2.3.3 Actividad biológica

Estudios sobre la composición química de *C. odorata* han demostrado que presentan una gran cantidad de sustancias extraíbles las cuales tienen propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antimicrobianas, citotóxicas y antioxidantes, mostrando un uso potencial en la prevención y tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas. Por lo que se conoce que no solo la madera puede ser utilizada como madera aserrada, sino que, se le orienta a dar un uso terapéutico (Téllez *et al.*, 2006). Esto se conoce ya que tanto las plantas como los árboles presentan compuestos naturales o también llamadas sustancias extraíbles (compuestos fenólicos, alcaloides, terpenos) con distintas actividades biológicas como: antioxidante, antimicrobiana, hipoglucemiante y citotóxica. Los limonoides, son uno de los principales metabolitos secundarios de la familia *Meliaceae*, estos son bien conocidos por su abundante diversidad estructural y amplia gama de antialimentarios, antipalúdicos, actividades antimicrobianas, citotóxicas y reguladores del crecimiento, el compuesto mexicanoloide identificado en *C. odorata* es un tipo de limonoide el cual presenta características fisicoquímicas y propiedades farmacocinéticas mostrando ser un buen candidato similar a un fármaco y además de considerarse un compuesto con posibles actividades anticancerígenas (Alozieuwa *et al.*, 2021) Además, se han identificado aceites volátiles de la corteza del tallo en *C. odorata* los cuales tienen potencial como biopesticidas para *Sitophilus zeamais* (Akinbuluma, 2020).

2.3.5 Compuestos Químicos

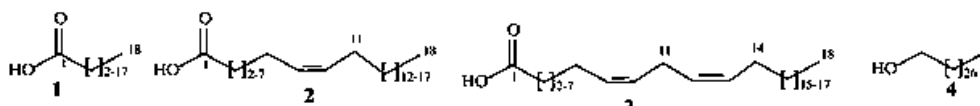
Desde 1960, se han identificado más de 200 componentes químicos en *Cedrela*, entre los que se incluyen limonoides y triterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, esteroides entre otros. Algunas de sus estructuras se muestran a continuación; (Nogueira *et al.*, 2020).

2.3.5.1 Ácido alifático y alcohol

Los ácidos grasos son cadenas de hidrocarburos con un grupo carboxilo al final de la molécula y desempeñan una serie de funciones claves en el metabolismo, algunos de las principales fuentes de ácidos grasos son los aceites vegetales, productos lácteos y aceites de pescado, sin embargo, estos compuestos han sido identificados en el aceite de la corteza y la albura de *C. odorata*, mientras que los ácidos oleico y linoleico son más comunes en las plantas. Los ácidos grasos esteárico, oleico, linoleico y alcohol n-octacosanol han sido identificados en el género de *Cedrela* (cuadro 1) (Nogueira *et al.*, 2020).

Cuadro 1. Ácidos alifáticos y alcoholes aislados del género *Cedrela* (1960-2020)

Compuesto	Especies de plantas	parte de la planta
ácido esteárico (1)	<i>Cedrela odorata</i> L.	aceite de corteza y albura
ácido oleico (2)		
ácido linoleico (3)		
n-octacosanol (4)		

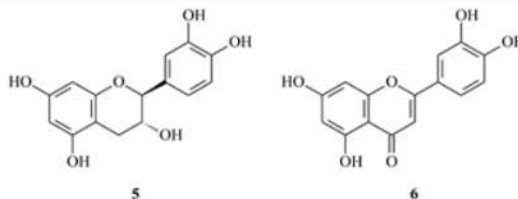


2.3.5.2 Flavonoides

Son una clase de metabolitos secundarios, también conocidos como polifenoles antioxidantes los cuales se encuentran naturalmente en las plantas, sin embargo, un estudio reportó la ausencia de proantocianidinas, también conocidas como taninos, cuyos componentes básicos pueden ser catequina o epicatequina de *C. odorata* L y su presencia en *Toona ciliata*, por lo que, estos constituyentes podrían haber sido translocados del stock de *Toona* al injerto de *cedrela*, en la siguiente tabla se muestran los flavonoides identificados en el género *cedrela* (cuadro 2) (Nogueira *et al.*, 2020).

Cuadro 2. Flavonoides aislados del género *Cedrela* (1960-2020)

Compuesto	Especies de plantas	parte de la planta
catequina (5)	<i>C. fissilis</i> Vell.	frutas
	<i>C. odorata</i> L. injertada con <i>Toona australis</i> (F. Muell.) Daños	Tallos
luteolina (6)	<i>C. odorata</i> L.	Tallos

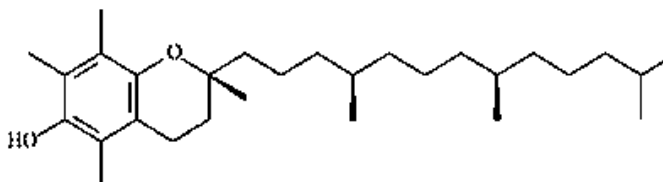


2.3.5.3 Tocoferol

Los tocoferoles constituyen miembros del grupo de la vitamina E, componentes dietéticos esenciales en los mamíferos y están asociados con un menor riesgo de muchas enfermedades, su biosíntesis es potencialmente derivable de la oxidación de compuestos fenólicos a quinonas, a continuación, se muestran el terpenoide quinona identificado en el género *Cedrela* (cuadro 3) (Nogueira *et al.*, 2020).

Cuadro 3. Tocoferoles aislados del género *Cedrela* (1960-2020)

Compuesto	Especies de plantas	parte de la planta
D- α -tocoferol (7)	<i>C. odorata</i> L.	Sale de



2.3.5.4 Terpenos

2.3.5.4.1 Monoterpenos

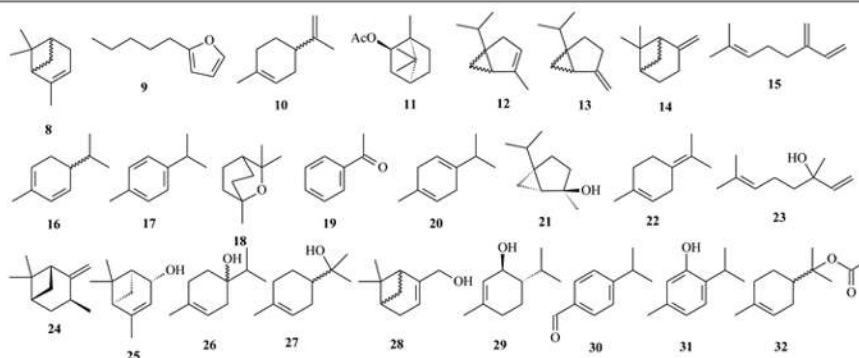
Estos son una clase de metabolitos secundarios generalmente identificados en los aceites los cuales se pueden obtener de diferentes partes de algunas plantas. Los monoterpenos identificados en *Cedrela* se muestran en las siguientes imágenes (cuadro 4 y 5) (Nogueira *et al.*, 2020).

Cuadro 4. Monoterpenos aislados del género *Cedrela* (1960-2020)

Compuesto	Especies de plantas	parte de la planta
α -pineno (8)	<i>C. odorata</i> L.	aceite esencial de hoja
2-pentilfurano (9)		Aceite de hojas y cortezas de tallo
limoneno (10)		aceite esencial de hoja
		aceite de hoja
acetato de bornil (11)		aceite esencial de hoja
α -tujeno (12)		Aceite de hojas y cortezas de tallo
sabineno (13)		
β -pineno (14)		
mirreno (15)		
α -felandreno (16)		aceite de corteza de tallo
p-cimeno (17)		Aceite de hojas y cortezas de tallo
1,8-cineol (18)		
Acetofenona (19)		aceite de hoja
γ -terpineno (20)		Aceite de hojas y cortezas de tallo
<i>trans</i> -sabinenehidrato (21)		
Terpinoleno (22)		Aceite de hojas y cortezas de tallo
Linalol (23)		
<i>trans</i> -Pinocarveol (24)		aceite de corteza de tallo
<i>trans</i> -verbenol (25)		aceite de corteza de tallo

Cuadro 5. Monoterpenos aislados del género *Cedrela* (1960-2020)

Terpinen-4-ol (26)	aceite de corteza de tallo
α -terpineol (27)	aceite de hoja
mirtenol (28)	aceite de corteza de tallo
<i>trans</i> -Piperitol (29)	aceite de corteza de tallo
Cuminaldehído (30)	aceite de corteza de tallo
timol (31)	aceite de corteza de tallo
α -terpinilacetato (32)	aceite de hoja



2.3.5.4.2 Sesquiterpenos

Son una clase de metabolitos secundarios, cuya estructura química se forma de tres unidades de isopreno, pocos estudios sobre la composición del aceite esencial de las especies de *Cedrela* han demostrado que los sesquiterpenos se encuentran en abundancia, algunos autores afirman que los hidrocarburos sesquiterpénicos están presentes en el aceite esencial

de hojas, mientras que los derivados oxigenados predominan en el aceite esencial de corteza, a continuación se ilustran algunos recuperados del género *Cedrela* (cuadro 6 ,7 y 8) (Nogueira *et al.*, 2020).

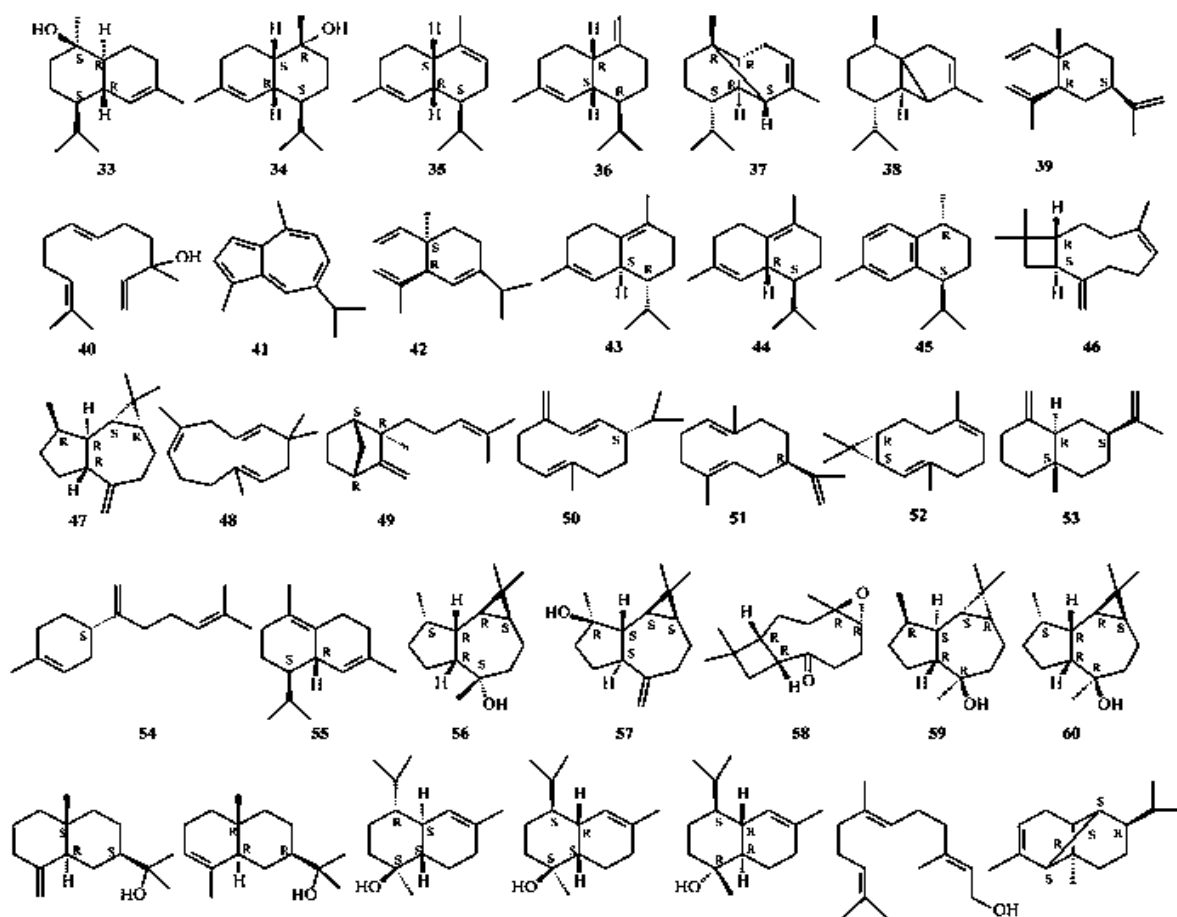
Cuadro 6. Sesquiterpenos aislados del género *Cedrela* (1960-2020)

Compuesto	Especies de plantas	parte de la planta
cedrelanol (33)	<i>C. odorata</i> L. <i>C. odorata</i> L.	aceite esencial de hoja -
Terrenoel (34)	<i>C. odorata</i> L.	Acetate esencial de corteza y albura
o-mircroleno (35)	<i>C. odorata</i> L. <i>C. odorata</i> L. <i>C. fissilis</i> Vell.	Aceites esenciales de corteza, albura y duramen Sale de aceite de corteza de tallo
γ-Murroleno (36)	<i>C. odorata</i> L.	Acetate esencial de corteza y albura
α-copseno (37)	<i>C. odorata</i> L. <i>C. fissilis</i> Vell. <i>C. odorata</i> L.	Aceites esenciales de corteza, albura y duramen aceite esencial de hoja Acetate de corteza de hoja y tallo Sale de
β-Cubebeno (38)	<i>C. odorata</i> L. <i>C. odorata</i> L. <i>C. fissilis</i> Vell.	Acetate esencial de duramen aceite esencial de hoja aceite de hoja aceite de corteza de tallo Sale de
5-Elemeno (39)	<i>C. odorata</i> L. <i>C. odorata</i> L.	Aceites esenciales de corteza, albura y duramen aceite esencial de hoja Acetate de corteza de hoja y tallo

Cuadro 7. Sesquiterpenos aislados del género *Cedrela* (1960-2020)

β-Elemeno (39)	<i>C. odorata</i> L. <i>C. odorata</i> L. <i>C. fissilis</i> Vell.	Acetate de corteza de hoja y tallo Sale de Sale de Acetate de corteza de hoja y tallo
nerolidol (40)	<i>C. fissilis</i> Vell.	aceite de hojas
guayazuleno (41)	<i>C. odorata</i> L.	Aceites esenciales de corteza, albura y duramen
δ-Elemene (42)	<i>C. odorata</i> L. <i>C. odorata</i> L.	- aceite de corteza de tallo
(-)-δ-Cadineno (43)	<i>C. odorata</i> L.	-
(+)-δ-Cadineno (44)	<i>C. odorata</i> L.	-
(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-Calamenene (45)	<i>C. odorata</i> L. <i>C. odorata</i> L. injertada con <i>Toona australis</i> (F. Muell.) Daños	Aceites esenciales de corteza, albura y duramen - Tallos Tallos
β-cariofileno (46)	<i>C. fissilis</i> Vell. <i>C. odorata</i> L. <i>C. odorata</i> L. <i>C. odorata</i> L.	Acetate de corteza de hoja y tallo Acetate de corteza de hoja y tallo Sale de Sale de aceite esencial de hoja

Cuadro 8. Sesquiterpenos aislados del género *Cedrela* (1960-2020)



2.3.5.5 Triterpenoides

2.3.5.5.1 Triterpenos

Estos compuestos son una de las clases más grandes de productos vegetales naturales, se forman inicialmente por escualeno, tienen una variedad de efectos biológicos y se utilizan en la prevención y el tratamiento de algunas enfermedades; se presentan algunos en el siguiente cuadro (cuadro 9) (Nogueira *et al.*, 2020).

Cuadro 9. Triterpenos aislados del género *Cedrela* (1960-2020)

Compound	Plant Species	Plant Part
3,11-dioxoolean-12-en-28-onic acid (119)	<i>C. fissilis</i> Vell.	Fruits
Ursolic acid (120)	<i>C. odorata</i> L.	Stems
Oleanolic acid (121)	<i>C. fissilis</i> Vell.	Roots
		Fruits
	<i>C. montana</i> Moritz ex Turcz.	Fruits and seeds
	<i>C. odorata</i> L.	Stems
Oleanonic acid (122)	<i>C. odorata</i> L.	Bark
	<i>C. fissilis</i> Vell.	Roots
		Fruits
	<i>C. montana</i> Moritz ex Turcz.	Fruits and seeds
3-oxo-11 α ,12 α -epoxi-olean-28,13 β -olide (123)	<i>C. montana</i> Moritz ex Turcz.	Fruits and seeds
3-oxo-olean-11-en-28,13 β -olide (124)		Fruits and seeds
Cedrelosin C (125)	<i>C. odorata</i> L.	Leaves
Cedrelosin D (126)		Leaves
Odoritol (127)	<i>C. odorata</i> L. grafted with <i>Toona australis</i> (F. Muell.) Harms	Stems
		-
	<i>C. odorata</i> L.	-
		Heartwood
	<i>C. odorata</i> L.	-
	<i>C. odorata</i> L.	Heartwood

3. JUSTIFICACIÓN

Con anterioridad, se reportó que la madera de *C. odorata* presenta una alta concentración de compuestos fenólicos que participan en neutralizar radicales libres y además, presentan interesante actividad biológica como citotóxicas y antimicrobianas, demostrando así la importancia de obtener nuevos compuestos de origen natural, ya que, debido al uso mayormente en la fabricación de muebles, deponiendo como propósito el efecto tecnológico que dichos compuestos pueden llegar a tener. Por esta razón, en el presente trabajo tiene como propósito evaluar la actividad antioxidante, antimicrobiana y citotóxica de los extractos crudos provenientes del duramen de *C. odorata*.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar la actividad antioxidante, antimicrobiana y citotóxica de los extractos crudos del duramen de *C. odorata*.

4.2 Objetivos particulares

- Conocer cuantitativamente el contenido de extraíbles crudos obtenidos de duramen de *C. odorata*.
- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos crudos.
- Determinar la actividad antioxidante de los extractos crudos sobre el modelo *Ceanorhabditis elegans*.
- Determinar la actividad citotóxica de los extractos crudos sobre el modelo *Artemia salina*.
- Valorar la actividad antimicrobiana de los extractos crudos sobre diversos patógenos de plantas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Material Biológico

El material para la obtención de los extractos crudos fue a partir de la especie arbórea *C. odorata* que fue donada por un aserradero de Ciudad Hidalgo.

Se utilizaron nematodos *C. elegans* y crustáceos *A. salina* requeridos para los bioensayos *in vivo* pertenecientes a la colección del laboratorio de Nutrición Vegetal del Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán A. C. (CIDAM) a cargo del Dr. Josué Altamirano Hernández profesor investigador.

Los patógenos de plantas que se utilizaron en el presente estudio fueron pertenecientes a la colección del laboratorio de Microbiología de la Madera del Edificio de Posgrado de FITECMA a cargo del Dr. Crisanto Velázquez Becerra profesor investigador.

5.1.1 Reactivación del material biológico

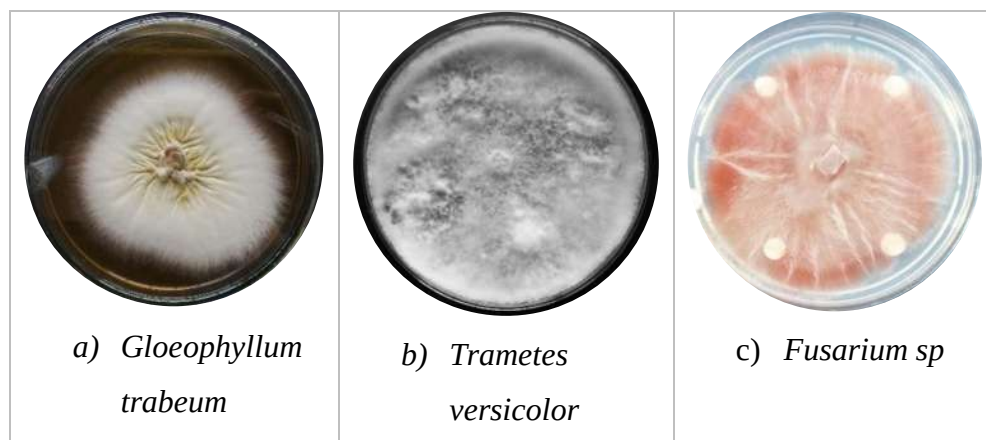


Tabla 3. Hongos reactivados para las pruebas antimicrobianas con extractos de duramen de *C. odorata*; a) y b) muestran hongos patógenos de madera y c) hongos fitopatógenos, que se encuentra en plantas de aguacate.

5.1.2 Obtención de los extractos para cada solvente

El material (astillas) fue molido (**fig. 1**) en un molino Wiley de acuerdo a la norma T-257 (TAPPI, 2000) obteniendo un polvo fino (aserrín), la cual fue cribada en diferentes mallas 20, 40 y 60, utilizando la de malla 40 (420 μ m), retenida en la malla 60.



Figura 1. Habilitación del material de estudio, a) molienda, b) cribado y c) polvo de malla 40.

Para la obtención de los extractos se utilizaron los siguientes solventes de acuerdo a su polaridad ascendente; hexano (EHX), diclorometano (EDM), metanol (EMN) y finalmente agua caliente (EHW) bajo reflujo (Bernabé-Santiago *et al.*, 2013), fueron pesados en una balanza analítica (precisa), 13 g de harina y posteriormente se colocaron en un dedal de extracción de celulosa para Soxhlet y se adicionó 150 mL de solvente (MEYER) grado reactivo en un matraz de fondo redondo Erlenmeyer, se montó el equipo de extracción Soxhlet y se inició la extracción a temperatura de ebullición del solvente de 4 h, se mantuvo un reflujo constante durante 4 hrs. El extracto se concentró en un rotavapor (Heidolph) para separar el solvente, el extracto crudo se llevó a sequedad completa en un desecador hasta sequedad total. Los extractos secos se almacenaron en frasco ámbar hasta su utilización. Posteriormente para recuperar los extractos se diluyeron en 10 mL de su respectivo solvente, se llevó a sequedad en un vial ámbar con capacidad de 10 mL, El contenido de extraíbles para cada solvente se calculó dividiendo el peso del extracto anhidro entre el peso de la harina anhidra referido porcentualmente. Los extraíbles totales se calcularon con la suma de los porcentajes de los extraíbles de cada solvente (Bernabé-Santiago *et al.*, 2013).

5.2 Cuantificación de fenoles

La determinación de fenoles totales solubles se realizó por el método de Folin-Ciocalteu. El ácido gálico se empleó como estándar a una concentración de 0.010 a 5 mg/mL. Las absorbancias respectivas se midieron a 760 nm en un espectrofotómetro M491 EPOCH. La concentración de fenoles totales solubles se reportó como mg de equivalentes de ácido gálico/ml. Los valores equivalentes a μ moles de ácido gálico/g peso fresco de cada muestra se obtuvieron con la ecuación de la recta de la curva de linealidad.

5.3 Determinación de la actividad antioxidante *in vitro*

Para determinar la actividad antioxidante de los extractos se normalizaron a una concentración de 10 μ g/mL esto con el fin de evaluar la potencia antioxidante de los extractos obtenido (Hernández, 2019).

5.4 Determinación de la actividad antioxidante de los extractos por el método de DPPH⁻

La actividad antioxidante de los extractos se evaluó en base a la capacidad de eliminar el radical libre 2,2-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH⁻) en base al método descrito por Brand-William (1995). Las soluciones de los extractos (10 μ g/ml) se mezclaron con 1,000 μ L de la solución metanólica de DPPH⁻ 1 Mm, las muestras fueron incubadas 30 min a una temperatura ambiente y mediremos la absorbencia empleando un espectrómetro Perkin Elmer Lambda 18 (Brand-William, 1995).

5.5 Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos por el método ABTS⁺

La capacidad de atrapamiento de los radicales libres se evaluó por el método del radical ABTS⁺ (Ácido 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) desarrollado por Pellegrini (1999), indicando para emplearse con compuestos coloridos como los extractos de este estudio, adaptado a la metodología por (Kuskoski *et al.* 2004), con modificaciones. Para la preparación del radical ABTS⁺, se hizo reaccionar persulfato de potasio con ABTS⁺. La mezcla se cubrió completamente y se dejó en agitación por al menos 16 h a temperatura ambiente para permitir la formación del radical. Después de este tiempo, 150 μ L del radical ABTS⁺ se diluyó con 15 ml de etanol absoluto en un vaso cubierto con papel aluminio, se

registró la absorbencia inicial y en la misma celda se añadirá 10 μ L de extracto a probar diluido en etanol absoluto, la mezcla se agitó y se comenzó a leer la absorbencia a 754 nm empleando un espectrómetro Perkin Elmer Lambda 18, se tomaron lecturas a 1 min y 6 min después de iniciar la reacción, se realizó una curva estándar con TROLOX disuelto en etanol (10 Mm) con el mismo procedimiento para muestras y estándares.

5.6 Evaluación del poder antioxidante reductor de Hierro (FRAP) de los extractos

En el ensayo FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) los compuestos antioxidantes reducen el complejo Fe (III)-Tripiridiltriazina en su forma ferrosa de color violeta que se describe por Benzie y Strain (1996). Para este ensayo se elaboró la solución de trabajo el día del ensayo para la cual se mezcló Acetato de Sodio 300 mM a pH de 3.6, Cloruro Férrico 20 mM y TPTz (2,4,6-tripiridil-s-triazina) 10 Mm (SIGMA) en proporción 10:1:1 y se colocaron en agitación a 37°C por 10 minutos en oscuridad, para el ensayo se colocaran 10 μ L de cada extracto normalizado y 150 μ L de la solución de trabajo en placas de 96 pozos y se dejó estabilizar la reacción por 20 min en ausencia de luz, la absorbancia se medirá a una longitud de 593 nm en un espectrómetro UV-Vis para microplacas.

Para ver la correlación entre el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro se multiplicó el valor obtenido a una concentración de 10 μ g/mL de compuestos fenólicos por la cantidad total contenida en el extracto crudo (Benzie y Strain, 1996).

5.7 Efecto tóxico de extractos crudos de *C. odorata* en el modelo *A. salina*

5.7.1 Crecimiento de *A. salina*

Los quistes de *A. salina* se colocaron en agua salada (3% de sal san-Halita, especial para acuarios), a una temperatura de 25°C con una iluminación de aproximadamente 2000 lux en la superficie del agua y manteniendo una aireación constante que permitió mantener niveles de oxígeno por encima de 2 mg/L. Después de 72 h el cultivo de *Artemia* se encontró en la fase de nauplio, para su uso en las pruebas de toxicidad (Sorgeloos *et al.* 1986; Mirzaei *et al.* 2013).

5.7.2 Determinación de CL₅₀

La concentración letal 50 (CL₅₀) se determinó con *Artemia* en fase de nauplio. Las larvas fueron colocadas en placas de 96 pocillos, 6 larvas por pozo, para cada extracto se utilizaron cuatro concentraciones (10, 20, 40, 80 µg/mL). El agua salada absoluta y otro con un volumen de dimetilsulfóxido (DMSO) 1% se emplearon como controles, con la finalidad de descartar que el DMSO tuviera un efecto sobre el cálculo de la CL₅₀. La muerte de las larvas se determinó cada 12 horas por un periodo de 24 horas. La CL₅₀ se calculó por el método de regresión lineal seleccionando aquella R² con valores mayores o iguales a 0.8 y que tenga el 100% de sobrevivencia para las concentraciones más bajas y el 0% de sobrevivencia para aquellas concentraciones más altas. Se determinó la CL₅₀ por medio de regresión lineal la ecuación de la recta R² a partir del cálculo del coeficiente de correlación de Pearson (Ortiz, 2019):

$$r = \frac{\Sigma(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\Sigma(x - \bar{x})^2 \Sigma(y - \bar{y})^2}}$$

Coeficiente de R² (conocido $\bar{y}$, conocido $\bar{x}$)

Conocido $\bar{y}$: Rango % supervivencia

Conocido $\bar{x}$: Rango concentración

5.8 Actividad antioxidante *in vivo*

5.8.1 Estrés oxidativo causado con Peróxido de Hidrógeno (H₂O₂) en el modelo biológico *C. elegans*

Los extractos se normalizaron de 10 a 80 µg/mL de compuestos fenólicos con medio M9 *C. elegans* fue cultivado en medio de crecimiento de nematodos (NGM) en caja de Petri con *E. coli* en la superficie del medio a una temperatura de 18 °C. Para el ensayo de actividad antioxidante se colocó *C. elegans* (en etapa adulta) en placa de 96 pozos con medio M9 en presencia del extracto normalizado y se dejó incubar la placa por 48 horas en oscuridad a 18°C, transcurrido ese tiempo se realizaron lavados con medio M9 y se agregaron concentración de 5, 10 y 15 mM de H₂O₂ para causar un estrés oxidativo.

Se realizó un conteo de nematodos cada hora por un tiempo total de 6 horas y se determinó la CL₅₀ de H₂O₂ por medio del uso de un gráfico en el cual se cuantificó la supervivencia a las 6 horas (Moreno *et al.*, 2014; Ortiz, 2019).

5.9 Actividad antimicrobiana de los extractos

5.9.1 Preparación del inóculo

Se seleccionaron 6 microorganismos patógenos (**Tabla 4**), cultivo puro u obtenido de un aislamiento primario. Para la reactivación de las cepas se realizarán de acuerdo a sus condiciones de crecimiento, como se muestra en la siguiente tabla:

Hongos patógenos	Condición de crecimiento
<i>Trametes versicolor</i>	PDA a 32°C.
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	MEA a 25°C.
<i>Fusarium sp</i>	PDA a 32°C.

Tabla 4. Cepas utilizadas para la prueba antimicrobiana; como se muestra en las tablas, se utilizarán hongos patógenos de plantas.

5.9.2 Siembra de la muestra

Se tomó una muestra de cada cepa reactivada utilizando un asa bacteriológica y se cubrió el centro del agar nutritivo BD BIOXON, se sembró el inóculo sobre la superficie, se dejó secar por 5-20 minutos y se mantuvo la caja con la tapa cerrada, los discos fueron colocados sobre la superficie del agar nutritivo con pinzas estériles (se presionaron los discos para asegurar un contacto uniforme), se colocaron 4 discos en la periferia dejando entre disco un espacio (aprox. 2 cm); para evitar que las zonas de inhibición queden imbricadas, se colocaron los extractos, se incubaron las cajas inmediatamente a 35°C y las cajas fueron leídas después de 12-24 horas de incubación para patógenos (Ortiz, 2019).

5.9.3 Técnica de sensidisco

La prueba de sensibilidad se realizó utilizando el procedimiento del disco de la técnica descrita por Bauer, Kirby y Turk para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los patógenos a partir de los extractos de *C. odorata*, se utilizaron diluciones de 200, 300, 350 y 400 µg/0.25 mL de los extractos de hexano, diclorometano, metanol, agua y controles positivo y negativo, se impregnaron discos de papel filtro con 0.25 µL de extracto, el halo de inhibición se determinó en mm (Bernal, 1984).

5.9.4 Medición de los halos de inhibición

Se midió la zona de inhibición de cada disco contra una superficie oscura bajo luz reflejada, se cuantificó el diámetro de la zona incluyendo el disco, con una regla vernier sobre el respaldo de la caja Petri sin remover la tapa, se tomó como criterio que; una lectura de 6 mm indica que no hay zona de inhibición y para la zona de inhibición de los hongos, la caja Petri se dividió en 4 cuadrantes en los cuales fueron colocados cada uno de los discos con sus respectivos controles y extractos, el halo de inhibición se determinó midiendo el área de crecimiento del hongo en cada cuadrante.

6. Análisis estadístico

Ensayos	Pruebas estadísticas					
	ANOVA 1 vía	Medias Duncan	Media t de Student	Regresión lineal (R ²)	Curva concentración- respuesta	Método Kaplan- Meier
DPPH ⁻	X	X	X			
ABTS ⁺	X	X	X			
FRAP	X	X	X			
Toxicidad de <i>A. salina</i>				X	X	
Antioxidante <i>in vivo</i> en <i>C. elegans</i>						X
Actividad antimicrobiana	X	X				

Tabla ii. Pruebas estadísticas realizadas en cada uno de los ensayos, (x) indica la prueba que será aplicada a cada ensayo.

7. RESULTADOS

OBJETIVO 1:

CONTENIDO DE EXTRAÍBLES OBTENIDOS DE DURAMEN DE *C. ODORATA*

7.1 Obtención de los extractos para cada solvente.

7.1.1 Contenido de extraíbles en *C. odorata* L y su total de extraíbles.

El porcentaje de extraíbles presentes en la especie de *C. odorata* fue cuantificado por duplicado para cada extracto (tabla ii), fue calculado dividiendo el peso del extracto anhidro entre el peso de la harina anhidra referido porcentualmente. Los extraíbles totales se calcularon con la suma de los porcentajes de los extraíbles de cada solvente.

Tabla ii. Porcentaje de extraíbles para cada solvente obtenido a partir del duramen de *C. odorata* y su contenido total de extraíbles. Cantidades obtenidas por 12.327 g de harina.

Solventes				
	Hexano	Diclorometano	Metanol	Agua caliente
Peso promedio del extracto (g)	0.0592	0.0330	0.3326	0.3803
Porcentaje de extraíbles (%)	0.2395	0.2675	2.697	3.084
Extraíbles totales (%)	6.288			

7.1.2 Características de los extractos obtenidos

Los extractos obtenidos con cada solvente (Tabla ii y **Fig. 2**), fueron almacenados en viales color ámbar, el extracto hexano mostró una coloración incolora y una textura grasosa ya que este solvente arrastra grasas, ceras, terpenos entre otros, los cuales son compuestos no polares, siendo el solvente también un compuesto no polar, por su parte, el extracto con diclorometano se mostró amarillento y con textura grasosa, ya que también es un solvente no polar y arrastra compuestos no polares como grasas. El extracto metanólico mostró una coloración rojiza y textura suave como un polvo fino, siendo el metanol un solvente polar el cual arrastra compuestos polares como fenoles, flavonoides, entre otros.

Finalmente, el extracto acuoso mostró una coloración anaranjada y textura rugosa, siendo este un solvente polar con afinidad a compuestos polares como taninos en su mayoría.



Figura 2. Muestra de los extractos obtenidos con diferentes solventes; a) hexano, solvente no polar, b) diclorometano, solvente no polar, c) v d) metanol, compuesto polar, v e) v f) agua, solvente polar.

7.2 Experimentos *in vitro*

7.2.1 Cuantificación de fenoles totales por medio de Folin-Ciocalteu (FOLIN)

El contenido de fenoles se determinó por el método de FOLIN (**Tabla 3**) y se expresó como equivalentes de ácido gálico, donde se observó que el extracto metanólico mostro un 2.09 mg/EAG/g de contenido fenólico una mayor cantidad, por su parte, se observa que el extracto hexánico solo tuvo un contenido de 0.14 mg/EAG/g de fenoles.

Tabla 3. Contenido total de fenoles solubles de los extractos crudos de duramen de *C. odorata*. El ácido gálico fue usado como estándar para medir el contenido fenólico total. n=3. Extracto Acuoso, extracto metanólico, extracto hexánico y extracto diclorometano.

mg/EAG/g		
FOLIN-CIOCALTEU	Promedio	EE
Extracto Acuoso	1.97a	±0.43
Extracto Metanol	2.09a	±0.49
Extracto Diclorometano	0.25b	±0.23
Extracto Hexánico	0.14b	±0.08

OBJETIVO 2:

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE LOS EXTRACTOS CRUDOS

7.2.2 Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH

En la prueba por el método DPPH el ensayo evalúa la actividad antioxidante de los extractos para neutralizar radicales libres de DPPH en base al método descrito por Brand-Williams et al. (1995), en los cuales se observa una mayor actividad para reducir el radical DPPH[•], en el extracto acuoso con un valor de 419 μ M TROLOX/ml frente a una menor actividad con el extracto de diclorometano con un valor de 273 μ M TROLOX/ml (Tabla 4).

Tabla 4. Actividad antioxidante *in vitro* mediante la prueba de DPPH-: Duncan; $\alpha=0.05$ letras diferentes denotan diferencia significativa; las barras de error representan la desviación estándar (SD), n=3.

DPPH-	μ M TROLOX/ml	
	Promedio	EE
Extracto Acuoso	419a	± 51.0
Extracto Metanol	31b	± 10.2
Extracto Hexano	128.5c	± 16.3
Extracto Diclorometano	273.5d	± 4.1

7.2.3 Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS

Para la prueba de captación del radical ABTS^+ desarrollado por Pellegrini, *et al.* (1999) los resultados determinaron que solo los extractos acuoso y metanólico presentaron actividad para reducir este radical con un valor de 28 μM TROLOX/ml para el extracto acuoso y un valor de 19 μM TROLOX/ml para el extracto metanólico, mientras que el extracto de hexano y diclorometano mostraron actividad 36.7 y 20 μM TROLOX/ml respectivamente sobre el radical (Tabla 5).

Tabla 5. Actividad antioxidante *in vitro* radical ABTS^+ (2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), las barras de error representan la desviación estándar (SD), n=3.

ABTS	μM TROLOX/ml	
	Promedio	EE
Extracto Acuoso	28.3a	± 3.5
Extracto Metanol	19.0b	± 3.2
Extracto Hexano	36.7ab	± 1.7
Extracto Diclorometano	20.0b	± 4.9

7.2.4 Determinación de la capacidad antioxidante por el método FRAP

Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método poder antioxidante de la reducción férrica que fue descrita por Benzie y Strain, (1996). Los resultados mostraron que la mayor actividad fue obtenida por el extracto de diclorometano con un valor de 234 μM TROLOX/ml (Tabla 6)

Tabla 6. Actividad antioxidante *in vitro*, reductora de hierro, del complejo Fe (III)-Tripiridiltiazina férrica a su forma ferrosa FRAP, las barras de error representan la desviación estándar (SD), n=3.

FRAP	μM TROLOX/ml	
	Promedio	EE
Extracto Acuoso	64.3a	± 15.2
Extracto Metanol	40.9ab	± 14.3
Extracto Hexano	15.4b	± 13.1
Extracto Diclorometano	234.8c	± 15.0

OBJETIVO 3:
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *IN VIVO* DE LOS EXTRACTOS CRUDOS SOBRE EL
MODELO *CAENORHABDITIS ELEGANS*.

7.3 Efecto protector de los extractos en la tolerancia al estrés oxidativo en el modelo biológico *C. elegans* N2WT

Para evaluar la actividad antioxidante *in vivo* se utilizó al nematodo *C. elegans* N2WT, el cual es utilizado para diversos estudios de enfermedades como diabetes, obesidad o el envejecimiento prematuro, en el bioensayo el extracto metanólico obtuvo una supervivencia de 60% seguida del extracto acuoso con una supervivencia del 58% en concentraciones de 0, 1, 2.5, 5, 7.5, 10 y 15 mM de H_2O_2 cuantificado a las 6 horas después de la aplicación de H_2O_2 (**Figura 3**). Se utilizó medio M9 como control (+) y H_2O_2 como control (-).

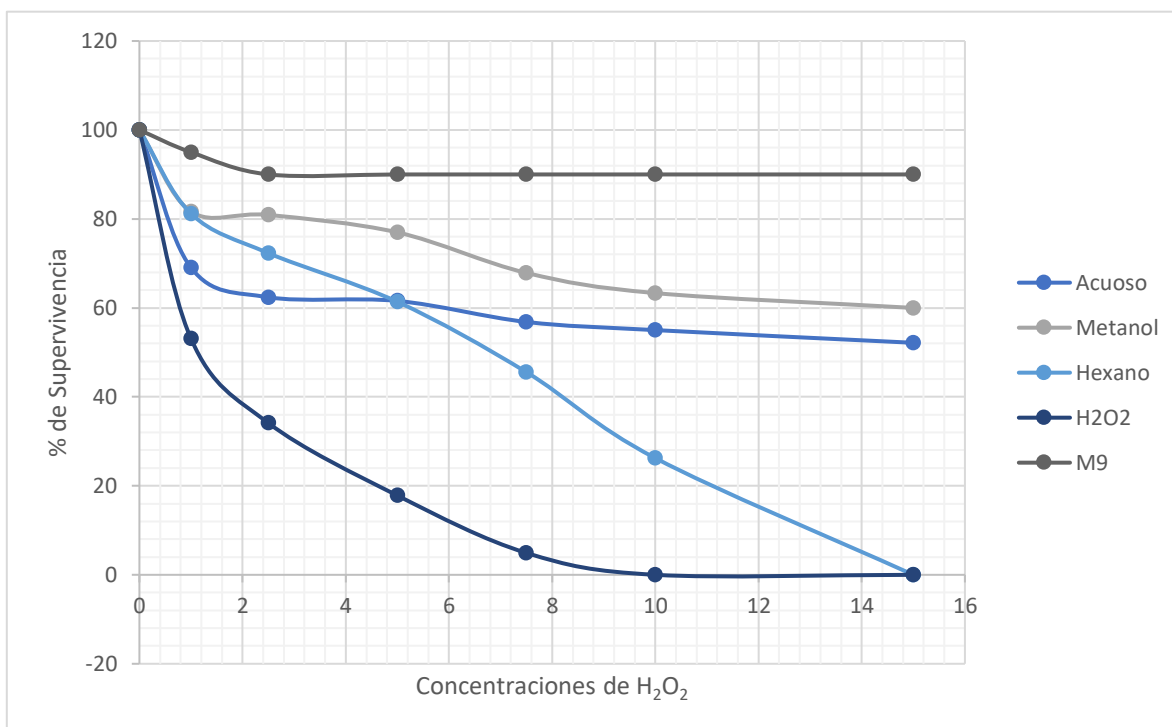


Figura 3. Efecto protector de los extractos frente al estrés oxidativo inducido por peróxido de hidrógeno.

OBJETIVO 4:
DETERMINAR LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE LOS EXTRACTOS CRUDOS
SOBRE EL MODELO *A. SALINA*.

7.4 Experimentos *in vivo*

7.4.1 Efecto tóxico del extracto acuoso de *C. odorata* en el modelo *A. salina*

En el ensayo de supervivencia (**Tabla 8**) para el modelo de *A. salina* se determinó la CL_{50} por el método de regresión lineal seleccionando aquella R^2 con valores mayores o iguales a 0.9 y que presentará el 100% de supervivencia para las concentraciones más bajas y el 0% de supervivencia para aquellas concentraciones más altas, donde el extracto acuoso obtuvo una supervivencia del 53% a 40 $\mu\text{g/ml}$.

Tabla 8. Proporción promedio de supervivencia en *A. salina* a 0 y 24 horas frente a las concentraciones de 0, 20, 40, 60 y 80 $\mu\text{g/ml}$ de extracto acuoso. $n=3$.

ACUOSO	Promedio	EE
Control As	100a	N/A
AS + Agua	77.91c	± 2.03
[10] ext A	60.11de	± 7.55
[20] ext A	69.91cd	± 2.81
[40] ext A	53.51e	± 3.80
[80] ext A	23.38b	± 4.24

7.4.2 Efecto tóxico del extracto metanólico de *C. odorata* por medio del cálculo de la concentración letal 50 en el modelo *A. salina*

En el bioensayo para el extracto metanólico de *C. odorata* (**Tabla 9**) en el modelo de *A. salina* se obtuvo una supervivencia del 57% a 40 µg/ml.

Tabla 9. Proporción promedio de supervivencia en *A. salina* a 0 y 24 horas frente a las concentraciones de 0, 20, 40, 60 y 80 µg/ml de extracto metanólico. n=3.

MeOH	Promedio	EE
Control As	100a	N/A
AS + Agua	86.08b	±3.08
[10] ext M	71.57d	±3.43
[20] ext M	64.16de	±1.48
[40] ext M	57.10e	±4.12
[80] ext M	32.75c	±3.11

7.4.3 Efecto tóxico del extracto hexánico de *C. odorata* por medio del cálculo de la concentración letal 50 en el modelo *A. salina*

En el bioensayo para el extracto hexánico de *C. odorata* (**Tabla 10**) en el modelo de *A. salina* se obtuvo una supervivencia del 43% a 20 µg/ml.

Tabla 10. Proporción promedio de supervivencia en *A. salina* a 0 y 24 horas frente a las concentraciones de 0, 20, 40, 60 y 80 µg/ml de extracto hexánico. n=3.

HEXANICO	Promedio	EE
Control As	100a	N/A
AS + Agua	90.00a	±3.47
[10] ext M	72.78b	±9.04
[20] ext M	43.33d	±3.33
[40] ext M	38.69d	±6.21
[80] ext M	1.52c	±1.52

OBJETIVO 5:

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS CRUDOS FRENTE A PATÓGENOS DE PLANTAS

7.5 Actividad antifúngica

7.5.1 Efecto antifúngico a dosis de cero, 400, 200, 100 y 50 μg de extractos de madera de *C. odorata* sobre *Fusarium sp.*

La actividad antifúngica en los extractos acuoso, metanólico, hexánico y diclorometano se observa en la siguiente figura, donde se puede observar que el extracto de diclorometano generó una mayor inhibición frente a los demás extractos (**Figura 4**), utilizando como control el fungicida (Priori Xtra).

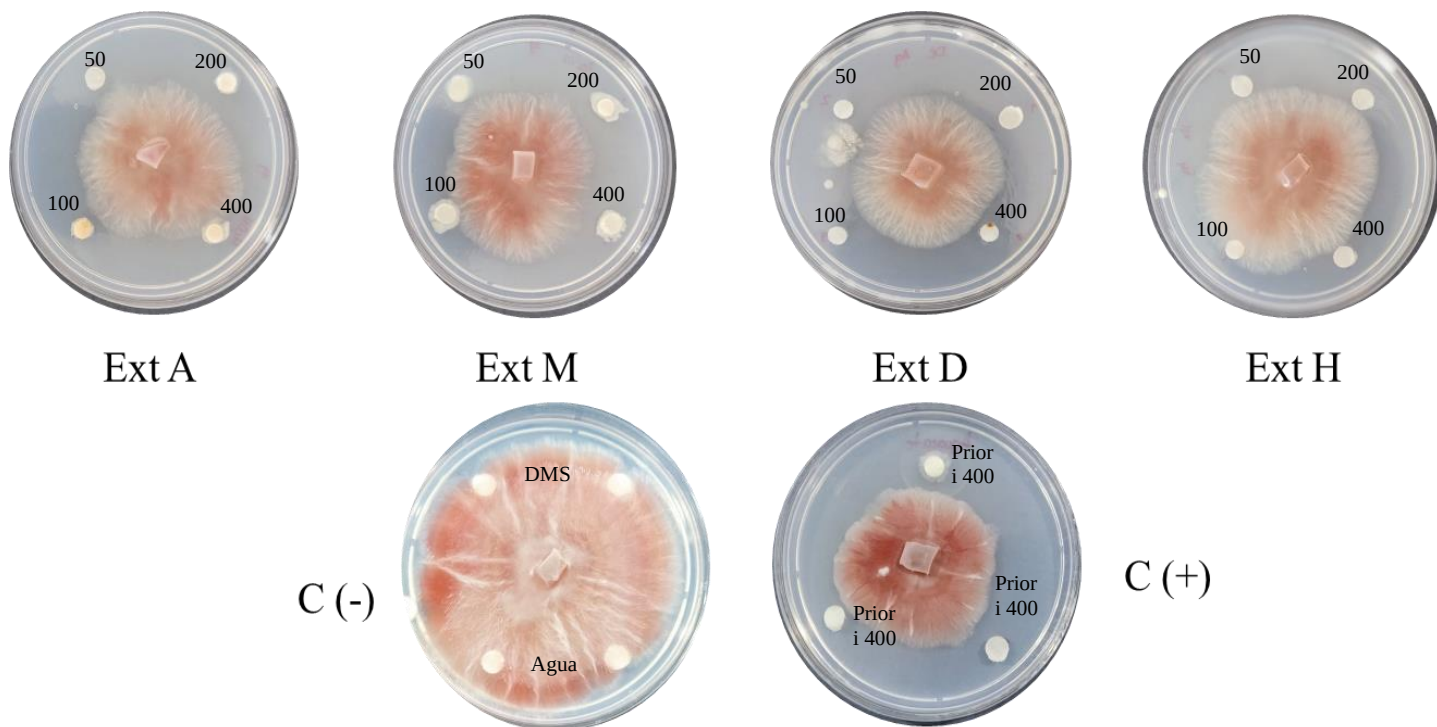


Figura 4. Fungicida comercial (Priori Xtra) fue usado a una dosis de 400 μg como control positivo y como control negativo se usó el solvente DMSO y agua destilada. Extracto acuoso (Ext A), extracto metanólico (Ext M), extracto hexánico (Ext H) y extracto diclorometano (Ext D). n=3.

7.4.2 Efecto antifúngico a dosis de 400, 200, 100 y 50 µg de extractos de madera de *C. odorata* en *Trametes versicolor*.

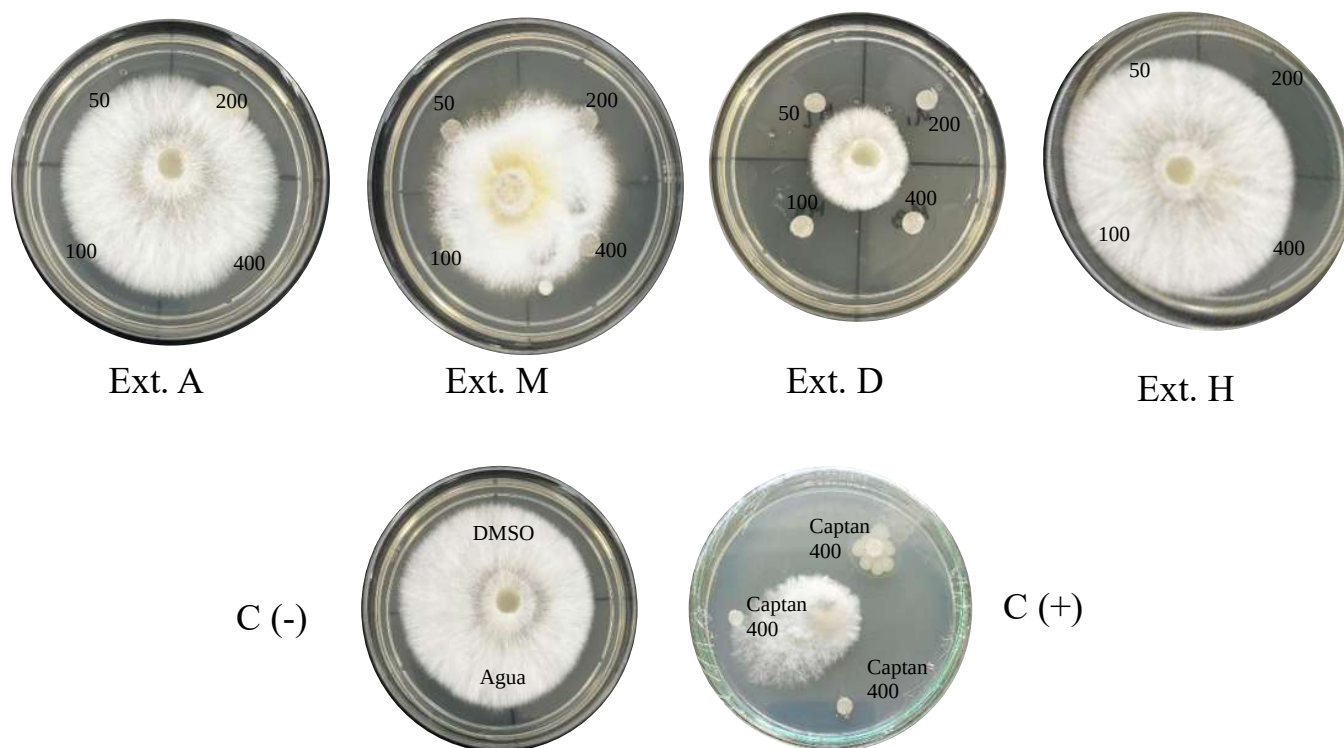


Figura 5. Fungicida comercial (Captan) fue usado a una dosis de 400 µg como control positivo y como control negativo se usó el solvente DMSO y agua destilada. Extracto acuoso (Ext A), extracto metanol (Ext M), extracto hexano (Ext H) y extracto diclorometano (Ext D). n=3.

7.4.3 Efecto antifúngico a dosis de 400, 200, 100 y 50 μ g de extractos de madera de *C. odorata* en *Gloeophyllum trabeum*

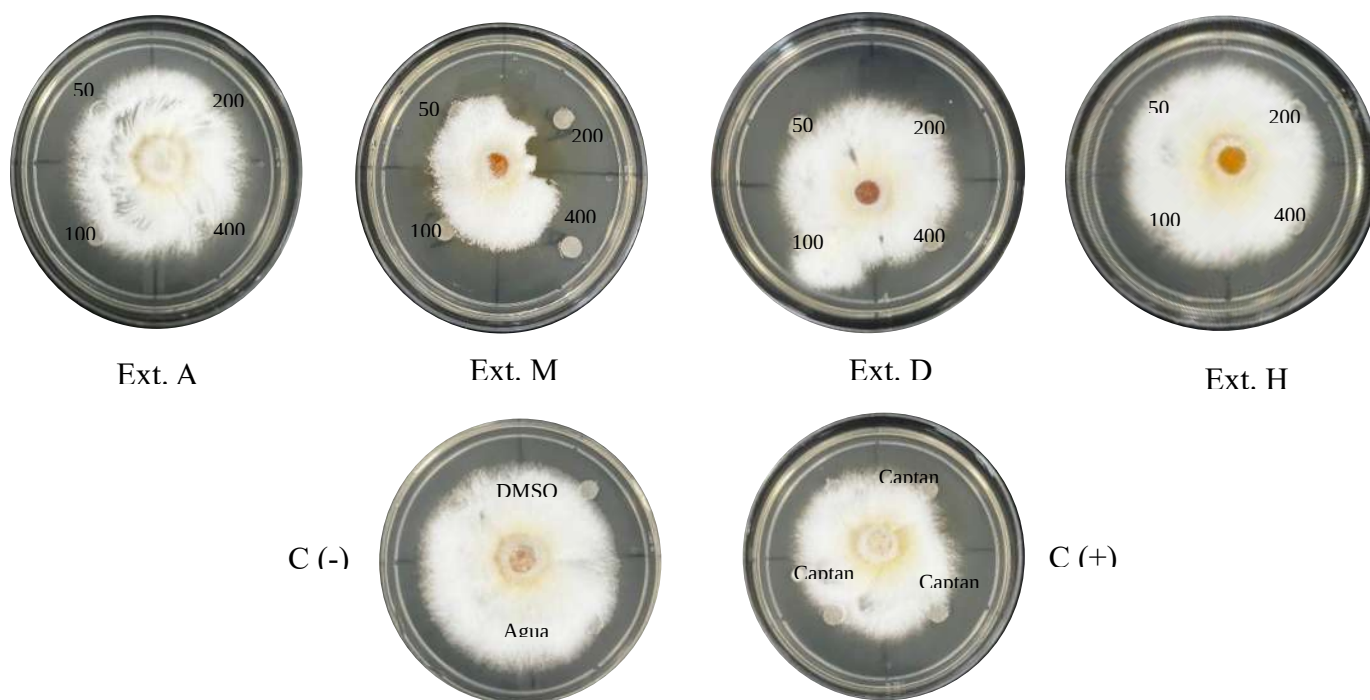


Figura 6. Fungicida comercial (Captan) usado a una dosis de 400 μ g como control positivo y como control negativo se usó el solvente DMSO y agua destilada. Extracto acuoso (Ext A), extracto metanol (Ext M), extracto hexano (Ext H) y extracto diclorometano (Ext D). n=3.

7.4.4 Porcentaje promedio del crecimiento de los patógenos frente a los extractos de madera de *C. odorata*

El porcentaje de crecimiento de la actividad antimicrobiana frente a las distintas concentraciones de los extractos de madera de *C. odorata* en los microorganismos arrojaron datos de crecimiento menores en concentraciones de 400 µg de extracto, siendo el diclorometano el extracto que generó un efecto de crecimiento menor mostrando el crecimiento en cm, seguido el extracto acuoso que también generó un crecimiento menor, sin embargo, los datos demostraron que el crecimiento fue similar al uso del antifúngico comercial (**Tabla 11**).

Extractos µl		<i>Fusarium</i>		<i>Trametes</i>		<i>Gloeophyllum</i>	
Acuoso		P	±EE	P	±EE	P	±EE
A	Control (0)	7.50a	0.20	7.50a	0.22	7.50a	0.22
	50	2.40b	0.24	3.03b	0.42	3.42b	0.22
	100	1.85c	0.17	2.27c	0.15	2.78c	0.15
	200	1.15d	0.10	2.12c	0.14	2.13d	0.10
	400	0.93d	0.10	1.52c	0.19	1.33e	0.21
Metanol							
B	Control (0)	7.50a	0.20	7.50a	0.22	7.50a	0.22
	50	2.63b	0.30	3.38b	0.39	3.55b	0.42
	100	2.28b	0.16	3.05bc	0.20	3.15bc	0.22
	200	1.53c	0.25	2.47cd	0.26	2.35cd	0.23
	400	1.23c	0.16	1.83d	0.16	1.73d	0.26
Diclorometano							
C	Control (0)	7.50a	0.22	7.50a	0.22	7.50a	0.22
	50	2.47b	0.34	2.77b	0.30	3.83b	0.20
	100	1.88bc	0.21	2.65b	0.12	2.83c	0.08
	200	1.57c	0.16	1.58c	0.28	2.13d	0.15
	400	0.82d	0.09	1.38c	0.27	1.80d	0.18

Hexano							
D	Control (0)	7.50a	0.22	7.50a	0.22	7.50a	0.22
	50	2.92b	0.27	3.55b	0.30	3.75b	0.38
	100	2.53b	0.17	3.08b	0.44	3.42bc	0.31
	200	1.07c	0.12	3.13b	0.18	2.73cd	0.29
	400	1.32c	0.21	1.70c	0.24	1.92d	0.17

Tabla 11. Porcentaje de inhibición sobre frente a los extractos acuoso, metanol, hexano y diclorometano, (P) valor promedio, error estándar (EE), n=3.

8. DISCUSION

En el proyecto de investigación se estudiaron las propiedades activas que presenta la especie de *Cedrela odorata*, analizando propiedades antioxidantes, citotóxicas y antimicrobianas mediante el uso y extracción de metabolitos secundarios, que aunque no forman parte principal de la estructura del árbol, resultan ser compuestos importantes ante la defensa de plantas con tallo leñoso frente a depredadores, además de, presentar propiedades potenciales utilizadas en la industria como productos farmacéuticos, terapéuticos, preservadores, como tratamiento para prevenir enfermedades, entre otras.

Los metabolitos secundarios de las plantas son compuestos naturales que muestran un alto potencial por tener propiedades biológicas importantes, sin embargo, su efecto va a depender del tipo de metabolito, concentración en la planta y su interacción con el receptor (Vélez-Terranova *et al.*, 2014), la presencia de los metabolitos secundarios también esta relacionada con la edad del árbol, los mecanismos de defensa de la planta, contenido de nutrientes y la influencia del suelo y clima, estas últimas ejercen una gran influencia en lo que respecta a los principios activos y compuestos secundarios, la humedad, el contenido de sales, luz, temperatura y precipitaciones, tienen marcado efecto en su presencia en las plantas, ya que ciertas carencias y excesos provocan situaciones de estrés que generan la síntesis de estos metabolitos (Verdecía *et al.*, 2021).

La cuantificación y extracción por solventes de compuestos bioactivos de materiales vegetales, constituyen una etapa importante en la elaboración de productos ricos en fitoquímicos, la aplicación de estos métodos para obtener compuestos utilizados como productos naturales, es una estrategia en la que son utilizados solventes con diferente polaridad (Luisetti *et al.*, 2020), la capacidad de extracción de los compuestos fenólicos es mayor en solventes polares (Aronés-Jara *et al.*, 2022), siendo el metanol un solvente polar que muestra altos niveles de extracción, debido al mayor contenido de compuestos extraíbles polares que se disuelven por la amplia distribución de grupo -OH presentes (Ortiz, 2019), además la extracción acuosa con la alta polaridad que muestra el agua logra una mayor extracción sobre solventes polares como taninos, y solventes como el diclorometano y hexano por ser solventes no polares pueden extraer compuestos apolares como ácidos grasos, terpenoides y ceras, encontrados en estos ensayos.

La cuantificación de fenoles totales en *C. odorata* (figura 3.) mostró que el extracto acuoso y metanólico obtuvieron un mayor contenido de fenoles por tener la capacidad de extraer compuestos polares, la investigación de Rosales-Castro *et al.*, (2016) demostró que la madera de cedro tenía un alto contenido de fenoles, por lo que, la madera de cedro rojo, pretende ser un potencial para utilización de productos con alto nivel de extraíbles principalmente fenoles. En la prueba para reducir el radical DPPH[•], los extractos acuoso y metanólico presentaron una mayor actividad frente a este radical, lo que indica que dichos compuestos tienen mayor cantidad de ácidos fenólicos simples, sin embargo, los extractos no polares mostraron tener pequeña capacidad de reducir el radical lo que indica la presencia de ácidos fenólicos simples en menor cantidad pero no se descarta la posibilidad de que dichos compuestos cuentan con ellos, la prueba para reducir el radical ABTS⁺ los extractos acuoso y metanólico presentaron actividad sobre el radical lo que indica la presencia de polifenoles dichos compuestos están constituidos por uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos OH, de estos grupos OH se pueden neutralizar los radicales libres por transferencia de electrones o por hidrógenos (Us-Medina *et al.*, 2020), en comparación de los extractos no polares que tuvieron nula actividad sobre el radical, además, la prueba para reducir moléculas prooxidante que pueden simular procesos de óxido-reducción, por medio del método FRAP, donde los valores mas altos fueron en el extracto no polar (diclorometano), y una mínima actividad en metanol y el extracto acuoso, el extracto mostro tener la capacidad de neutralizar moléculas oxidantes, por lo que, se puede decir que los extractos como ácidos grasos que se caracterizan por tener cadenas largas y los ésteres tiene la propiedad de neutralizar las especies reactivas de oxígeno (Simioni *et al.*, 2018), lo anterior describe que las diferencias de actividad pueden atribuirse a condiciones tales como el origen de la materia prima, la estación del año en que se recolecta, el contenido de metabolitos secundarios, humedad, etc. (Us-Medina *et al.*, 2020).

Los extractos con múltiple variedad de metabolitos secundarios destacan propiedades biológicas, como la actividad antioxidante que tiene como principal efecto neuroprotector disminuyendo los niveles de ROS y aumento en los niveles de SOD principalmente asociado a extractos de polaridad media a alta (extracto metanólico y acuoso) que por lo general presentan compuestos antioxidantes tipo fenólicos y flavonoides, *C. elegans* como modelo de estudio es de fácil manejo y bajo costo, para la evaluación rápida y sistemática de extractos, la identificación de plantas que presentan actividad biológica frente a *C. elegans*

como modelo de estudio de enfermedades neurodegenerativas, abre la perspectiva frente a especies vegetales que pueden presentar metabolitos secundarios con potencialidad terapéutica (Lozano *et al.*, 2022), como lo fue en este estudio con extractos obtenidos del duramen de *C. odorata*, en los cuales utilizando el nematodo *C. elegans* como modelo de estudio en estrés oxidativo inducido, donde en dicho modelo el extracto metanólico obtuvo una supervivencia de un 60% seguido del extracto acuoso con una supervivencia del 58% y finalmente extracto de hexano con una supervivencia de 30% (fig. 7) por lo anterior, se plantea que existe una sinergia entre fenoles simples y polifenoles con sistemas antioxidantes de defensa del mismo nematodo, aunque es importante mencionar que a pesar de que el extracto acuoso tuvo mayor actividad en pruebas in vitro, la mezcla o el perfil de compuestos demostró tener una mayor protección el extracto metanólico respecto al acuoso, por lo que, el empleo de *C. elegans* en investigaciones etnobotánicas, contribuyen a identificar moléculas con actividad biológica, además de avalar el uso tradicional de plantas, como alternativa viable y complementaria para tratar y prevenir enfermedades neurológicas; contribuyendo también a la preservación del patrimonio cultural de las comunidades y convertirlo en opciones económicas para las poblaciones (Lozano *et al.*, 2022).

Artemia salina es un modelo biológico utilizado para estudios de toxicidad aguda, la prueba de letalidad en este modelo es un indicador preliminar de la toxicidad general de compuestos vegetales que permite determinar la concentración letal media (CL₅₀), dicho modelo es de fácil cultivo, disponibilidad, bajo costo y adaptación, en estos bioensayos para determinar la toxicidad de los extractos utilizados con *C. odorata* el extracto metanólico fue capaz de reducir la población en 50% a una concentración de 50 µg/ml, seguida del acuoso con un 41 µg/ml y finalmente el extracto de hexano con 29 µg/ml, lo que indica que extractos que contienen compuestos como grasas, se consideran ser más tóxicos en comparación de extractos que contienen compuestos polares como polifenoles frente a pruebas de toxicidad son considerados de menor toxicidad (Huaman *et al.*, 2020).

El crecimiento de microorganismos resistentes a los antibióticos o productos que puedan inhibir o eliminar la proliferación de hongos patógenos, hacen necesarios estudios de nuevos antimicrobianos de origen natural, que sean eficaces y accesibles, la realización de pruebas antimicrobianas se pueden desarrollar utilizando extractos vegetales (Navarrete *et al.*, 2020) obtenidos a partir de diferentes solventes de extracción en los cuales dicha investigación se

utilizaron solventes como agua, metanol, hexano y diclorometano, entre los cuales se trabajan solventes polares y apolares, utilizando cepas de *T. versicolor* y *G. trabeum* las cuales son considerados patógenos que deterioran y degradan la madera y *Fusarium sp.* Hongo patógeno que ataca principalmente cultivos de aguacate, esto sugiere que el perfil de compuestos tanto en solventes polares y apolares influye en la inhibición de las cepas, los extractos polares indican que gran parte de la actividad antimicrobiana se debe a flavonoides, compuestos fenólicos y saponinas, mientras que la actividad antimicrobiana de extractos apolares se atribuye a compuestos lipídicos como triterpenos o esteroides los cuales estudios han reportado que estos compuestos poseen actividad antimicrobiana, es importante considerar que un extracto es una mezcla de compuestos y pueden tener cierta actividad biológica con menor efecto que un compuesto aislado, esta variabilidad se puede atribuir a las condiciones del medio al que están sometidas las especies vegetales, la concentración, presencia o efecto de metabolitos secundarios que varían respecto a condiciones ambientales y se debe tomar en cuenta que los efectos de los extractos y mecanismos de acción de los antimicrobianos, las diferencias estructurales y fisiológicas varía entre las cepas utilizadas (Mora-Villa *et al.*, 2021), en los cuales el extracto acuoso y diclorometano lograron reducir un 80% en la inhibición de las cepas, sin embargo, la inhibición fue similar a la que es utilizada con fungicidas comerciales (**fig. 12, 13 y 14**).

8. CONCLUSIONES

Los extractos obtenidos a partir del duramen de *C. odorata* demostraron que los extractos polares tienen mayor actividad frente a las pruebas realizadas, por el perfil de compuestos y su contenido en polifenoles, tanto en la protección de estrés oxidativo, además de presentar una toxicidad mas baja respecto a los solventes apolares, sin embargo, las pruebas antimicrobianas mostraron que tanto solventes polares como apolares mostraron actividad en la inhibición de microorganismos patógenos en madera y cultivo de aguacate. Por lo que, se concluye que el extracto metanólico demostró ser el extracto con un mayor contenido de polifenoles, frente a las pruebas realizadas en este estudio.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Adamová T, Hradecký J, Pánek M. (2020). Volatile Organic Compounds (VOCs) from Wood and Wood-Based Panels: Methods for Evaluation, Potential Health Risks, and Mitigation. *Polymers*, 12(10), 1-21.
2. Ahamad, B., Islam, A., Khan, A., Khan, M. A., ul Haq, I., jafri, L., Ullah, N. (2019). Comprehensive investigations on anti-leishmanial potentials of *Euphorbia wallichii* root extract and its effects on membrane permeability and apoptosis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*.
3. Akinbuluma, M. (2020). Volatile oils from *Cedrela odorata* L. As Protectants against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 8(3): 20-24.
4. Almonte-Flores, D., Paniagua-Castro, N., Escalona-Cardoso, G. y Rosales-Castro, M. (2015). Pharmacological and Genotoxic Properties of Polyphenolic Extracts of *Cedrela odorata* L. and *Junglans regia* L. Barks in Rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-8.
5. Alozieuwa, B., Abdullahi, S., Agboola, A., Odey, B., Ovaiyoza, A., Iyaji, O., Yuyu, Z., Olayinka, O., Muhammed D. & Berinyuy, E. (2021). Mexicanolide, a bioactive compound from *Cedrela odorata*: In silico study of its pharmacokinetics, drug-likeness, potential drug targets, and cytotoxic activities against cancer cell lines. *BIOMED Natural and Applied Science*, 1(2):1, 2789-178.
6. Aronés-Jara, M., Cárdenas-Landeo, E., Luna-Molero, H., Barbarán-Vilcatoma, S., & Gómez-Quispe, M. (2022). Tamizaje fitoquímico, contenido de compuestos fenólicos y potencial antioxidante de trece plantas medicinales de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 88(2), 165-179.
7. Avalos, A. & Perez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Serie Fisiología Vegetal*, 2 (3);119-145.
8. Ávila-Calderón, L. & Rutiaga-Quiñones, J. (2014). Componentes químicos de la madera y la corteza de *Haematoxylum brasiletto* Karsten (Leguminosae). *Madera y bosques*, 20(2), 153-158.

9. Ávila, L. E. & Herrera, M. A. (2012). Efecto de los extraíbles en tres propiedades físicas de la madera de *Enterolobium cyclocarpum* procedente de Michoacán, México. *BOSQUE*, 33(2); 227-232.
10. Balick, M. J., & Cox, P. A. (2021). *Plants, People, and Culture: The Science of Ethnobotany*. Routledge.
11. Benzie, I. y Strain, J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power: The FRAP Assay”. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
12. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity LWT- Food Science and Technology, 28(1):25-30.
13. Dorsten, F., Peters, S., Gross, G., Roldan, V. G., Klinkenberg, M., De Vos, R. C. H., Vaughan, E., Van, J., Possemiers, S., Van De Wiele, T. & Jacobs, D. (2012). “Gut Microbial Metabolism of Polyphenols from Black Tea and Red Wine / Grape Juice Is Source-Specific and Colon-Region Dependent Gut Microbial Metabolism of Polyphenols from Black Tea and Red Wine / Grape Juice Is Source-Specific and Colon-Region Dependent”. *J. Agric. Food Chem*, 60(45);11331– 11342.
14. Esquivel-Gutiérrez E. R., Noriega-Cisneros R., Saavedra-Molina A. y Salgado-Garciglia R. 2013. Plants used in Mexican folk medicine with antidiabetic and antihypertensive properties. *PharmacologyOnline Newsletter* 2: 15-23.
15. Gonçalves, J., Silva, C., Castilho, P. & Câmara, J. (2013). “An attractive, sensitive and high-throughput strategy based on microextraction by packed sorbent followed by UHPLC-PDA analysis for quantification of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids in wines”. *Microchem. J*, 106;129–138.
16. Gómez, A., Lopez, J., Rodriguez, A., Fortiz, J., Martinez, L., Apolinar, A. & Enriquez, L. (2016). “Producción de compuestos fenólicos por cuatro especies de microalgas marinas sometidas a diferentes condiciones de iluminación,” *Lat. Am. J. Aquat. Res*, 44(1);137–143.
17. González, L. L. (2019). Biological activity and phytochemistry of *Cedrela odorata* L. and *Cedrela fissilis* Vell. *Phytochemistry Reviews*, 18(4), 973-1000.
18. Haminiuk, C., Maciel, G., Plata-Oviedo, M. & Peralta, R. (2012). “Phenolic compounds in fruits - an overview”. *Int. J. Food Sci. Technol*, 47(10)2023–2044.

19. Hernández, J., Reynoso, R., Hernández, A., García, X., Hernández-Máximo, E., Cob, J. & Sumano, D. (2018). Distribución histórica, actual y futura de *Cedrela odorata* en México. *Acta botánica mexicana*, (124).
20. Huaman, P., Blas, J., Zavaleta, W., Saldaña, G., Vásquez, J., Hoyos, K., Tafur, R., Rodriguez, K., Rodríguez, C., & López, T. (2020). Toxicidad del decocto de cálices de *Physalis peruviana* L. (Solanaceae) “aguaymanto” sobre larvas del tercer estadio de *Artemia salina*. *Arnaldoa*, 27(2), 561-570.
21. Ignat, V. & Volf, I. (2011). “A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables”. *Int. J. ChemTech Res*, 3(3);1033–1036.
22. Kabara, J. (2005). Medium-chain fatty acids and esters”. *Antimicrobials in food*, 327-360.
23. Kaplan, E. & Meier, P. (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Statistical Association*, 53:457-481.
24. Kaplan, E. & Meier, P. (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Statistical Association*, 53:457-481.
25. Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., García-Parilla, M. C. y Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Rev Bras Cienc Tecnol Alim*, 24(4): 691-693
26. Luisetti, J. & Ciappini, M. (2020). Estudio preliminar para optimizar la extracción de compuestos fenólicos bioactivos de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Revista de Ciencia y Tecnología*, (33), 1-10.
27. Márquez, A. C. & Lora, O. F. (1999). Plantas medicinales de México II composición, usos y actividad biológica. *Mexico. UNAM*, 35-37.
28. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. & Jiménez, L. (2004). “Polyphenols: Food sources and bioavailability,” *Am. J. Clin. Nutr.*, 79;(5): 727–747.
29. Martínez, V. & Gil, M. (2012). Fuentes renovables para la producción de materias primas y energía. *Real Sociedad Española de Química*, 108;1-10.
30. Martínez-Vento, N., Estrada-Ortiz, J., Góngora-Rojas, F., López-Castilla, R., Martínez-González, L., Curbelo-Gómez, S. (2010). Bioplaguicida de *Azadirachta indica* A. Juss (Nim) y la poda, una alternativa para el control de *Hypsipyla grandella*

- Zeller en plantaciones de *Cedrela odorata* L. *Revista Chapingo*. Serie ciencias forestales y del ambiente, 16(1);61-68.
31. Morales, E. & Herrera, L. (2009). CEDRO (*Cedrela odorata* L.) protocolo para su colecta, beneficio y almacenaje. *Programa de germoplasma forestal de la Comisión Nacional Forestal*.
 32. Mora-Villa, A., Serrano-Parrales, R., Lira-Saade, R., Jiménez-Estrada, M., & Hernández-Delgado, T. (2021). Evaluación de la actividad antimicrobiana de semillas de *Leucaena esculenta* y *Leucaena leucocephala* recolectadas en Tlayacapan, Morelos, México. *Polibotánica*, (52), 175-191.
 33. Moreno-Jimenez, M. R., Trujillo-Esquivel, F., Gallegos-Corona, M., Reynoso-Camacho, R., González-Laredo, R. F., Gallegos-Infante, J. A., Rocha-Guzmán, N. E. and Ramos-Gomez, M. (2015). “Antioxidant, anti-inflammatory and anticarcinogenic activities of edible red oak (*Quercus* spp.) infusions in rat colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine”. *Food Chem. Toxicol*, 80;144–153.
 34. Nogueira, T., Passos, M., Nascimento, L., Arantes, M., Monteiro, N., Boeno, S., Junior, A., Azevedo, O., Terra, W., Vieira, M., Braz-Filho, R. & Vieira, I. (2020). Chemical Compounds and Biologic Activities: A Review of *Cedrela Genus*. *molecules*, 25, 1-34.
 35. Navarrete, N., Pita-Ospina, E., Sánchez, Ruth., Giraldo, S. & Bernal, M. (2020). Actividad *in vitro* de los extractos etanólicos de *Lantana camara* L., *Petiveria alliacea* L. y *Lippia dulcis* T. frente a bacterias patógenas. *Nova*, 18(33), 53-71.
 36. Nychas, G. (1995). Natural antimicrobials from plant”. *Black Academic and Professional, Glasglow*, 59-89.
 37. Orozco, M., Robles, G., Hernández, F., Velázquez, M., Jesús, B., Manzanilla, R., Manzo, S. y Nieto, A. (2016). Uso de aceites y extractos vegetales para el control de *Diaphorina citri* Kuwayama1 en lima mexicana en el Trópico Seco de México. Southwest. *Entomol*, 41(4):1051-1066.
 38. Palacios, I., Lozano, M., Moro, C., Arrigo, M. D., Rostagno, M. A., Martínez, J. A., García-Lafuente, A., Guillamón, E. and Villares, A. (2011). “Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms”. *Food Chem*, 128(3);674–678.

39. Pérez, T. B.; Aragón, G. A.; Cuate, M. V.; López, O. J. F.; Aragón, S. M. y Lugo, G. (2017). Efecto de la aplicación en campo de mezclas de extractos vegetales sobre la presencia y daños de insectos plaga en el cultivo de *Amaranthus hypochondriacus* L. *Rev. Fac. Agron.* 34:477-496.
40. Renchuan, H., Chunrui, L., Weibin, X., Yan, L. & Chunlin, L. (2020). Ethnobotanical study on medicinal plants used by Mulam people in Guangxi, China. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 16:40,1-50.
41. Rodrigo-García, J., De la Rosa, L. A., Herrera-Duenez, B., González-Barrios, A. G., González-Aguilar, G. A., Ruiz-Cruz, S. and Alvarez-Parrilla, E. (2016). “Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en Ciudad Juárez, México Polyphenol and antioxidant capacity quantification in”. *Tecnociencia*, 5;67–75.
42. Rojas, N. & Rodríguez, M. (2008). Actividad antimicrobiana de *Tectona grandis* L. f., *Bursera simaruba* (L.) Sarg. y *Cedrela odorata* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 13(4).
43. Rowell R. (1984). The chemistry of solid wood. Washington D. C., USA. *American Chemical Society*, 614.
44. Rosales-Castro, M., Honorato-Salazar, J., Santos-García, A., Perez-López, E., Colotl-Hernandez, G. y Sanchez-Monsalvo, V. (2016). Composición química de las hojas y ramas de *Cedrela odorata* L. de dos plantaciones forestales como fuente de materia prima lignocelulósica. *Madera y Bosques*, 22 (2):131-146.
45. Sánchez, M., Salazar, J., Hernández, V., López, U. & Jasso, M. (2003). Parámetros genéticos y respuesta a la selección en características del crecimiento de *Cedrela odorata*. *Revista fitotec. Mexico*, 26(1); 19-27.
46. Sunkireddy, P., Jha, S., Kanwar, J. & Yadav, S. (2013). “Natural antioxidant biomolecules promises future nanomedicine based therapy for cataract.,” *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, 112; 554–62.
47. Taiz, L. y Zeiger E. (2002). *Plant Physiology. Sunderland: Sinauer*, 690(13);284-307.

48. Us-Medina, U., Millán-Linares, M., Arana-Argaes, V., & Segura-Campos, M. (2020). Actividad antioxidante y antiinflamatoria in vitro de extractos de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst). *Nutrición Hospitalaria*, 37(1), 46-55
49. Valencia-Avilés, E., Ignacio-Figueroa, I., Sosa-Martínez, E., Bartolomé-Camacho, M., Martínez-Flores, H. & García-Pérez, M. (2017). Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, 16, 1390-1869.
50. Velásquez, J., Rojas, L. y Encinas, O. (2019). Extractivos del duramen de especies latifoliadas como preservantes en la madera de *Pinus caribaea* Morelet. *Colombia Forestal*, 22(2);44-54.
51. Velázquez, M. (2010). Situación actual y perspectivas de las plantaciones forestales comerciales en México. *Boletín de la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR)*.
52. Vek, V., Keržič, E., Poljanšek, I., Eklund, P., Humar, M. & Oven, P. (2021). Wood Extractives of Silver Fir and Their Antioxidant and Antifungal Properties. *Molecules*, 26:(21), 1-15.
53. Velásquez, J., Rojas, L. & Encinas, O. (2019). Extractivos del duramen de especies latifoliadas como preservantes en la madera de *Pinus caribaea* Morelet. *Colombia Forestal*, 22(2), 44-54.
54. Vélez-Terranova, M., Campos, R., & Sánchez-Guerrero, H. (2014). Uso De Metabolitos Secundarios De Las Plantas Para Reducir La Metanogénesis Ruminal. Tropical and Subtropical. *Agroecosystems*, 17(3), 489-499.
55. Verdecía, D., Herrera-Herrera, R, Torres, E., Sánchez, A., Hernández-Montiel, L., Herrera, R., Ramírez, J., Bodas, R., Giráldez, F., Guillaume, J., Uvidia, H., & López, S. (2021). Metabolitos primarios y secundario de seis especies de árboles, arbustos y leguminosas herbáceas. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 55(1); 77-93.
56. Zelaya-Molina, L., Chávez-Díaz, I., de los Santos-Villalobos, S., Cruz-Cárdenas, C., Ruíz-Ramírez, S, & Rojas-Anaya, E. (2022). Control biológico de plagas en la agricultura mexicana. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13, 69-79.