

Desarrollos tecnológicos para el aprovechamiento industrial y farmacológico de la contrayerba (*Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.

Pérez-Bautista, Ivonne¹; Vilchis-Mercado, Irais¹; Galaviz-Mauricio, D. Cecilia²; Martínez-Betancourt, Selena R.²; Sánchez-Sánchez, Zaira S.²; Sánchez-Cortez, Katia¹; Ruiz-Posadas, Lucero del Mar^{3*}

¹ Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo, Posgrados de Recursos Genéticos y Productividad-fisiología vegetal km. 36.5 Carretera México-Texcoco, C.P. 56264, México.

² Colegio de Postgraduados, *Campus* San Luis Potosí. Iturbide 73, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, C.P. 78600, México.

³ Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo, Posgrados de Botánica km. 36.5 Carretera México-Texcoco, C.P. 56264, México.

* Autor para correspondencia: lucpo@colpos.mx

Contexto

Como Agenda se denomina el programa que contiene, ordenadamente, un conjunto de temas, tareas o actividades para su realización en un periodo de tiempo determinado. La palabra proviene del latín agenda, que significa ‘**cosas que se han de hacer**’. En este sentido, agenda, puede referirse a la serie de asuntos, compromisos u obligaciones que una persona ha ordenado, dispuesto y planificado para tratarlas en un periodo de tiempo. Las agendas de investigación e Innovación buscan apoyar el crecimiento de sectores productivos con base en el desarrollo de sus ventajas competitivas, a través de inversiones en diversas áreas del conocimiento, generación de innovaciones y adopción de nuevas tecnologías (Conacyt, 2022). En este caso se aborda el diseño de una agenda de investigación para un tema cultural cuyas implicaciones tienen relevancia con el Desarrollos tecnológicos para el aprovechamiento industrial y farmacológico de la contrayerba (*Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin

Cómo citar: Pérez-Bautista, I., Vilchis-Mercado, I., Galaviz-Mauricio, D. C., Martínez-Betancourt, S. R., Sánchez-Sánchez, Z. S., Sánchez-Cortez, K., & Ruiz-Posadas, L. del M., (2023). Desarrollos tecnológicos para el aprovechamiento industrial y farmacológico de la contrayerba (*Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin. *Agro-Divulgación*, 3(3). <https://doi.org/10.54767/ad.v3i3.215>

Editores académicos: Dra. Ma. de Lourdes C. Arévalo Galarza y Dr. Jorge Cadena Iñiguez.

Publicado en línea: Septiembre 2023.

Agro-Divulgación, 3(3). Mayo-Junio. 2023. pp: 73-89.

Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International



LÍNEA DE INVESTIGACIÓN 1: Análisis de la actividad antiofídica de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.

Antecedentes

Las mordeduras de serpiente son un problema de salud pública en muchos países tropicales y subtropicales, afectando a millones de personas anualmente causando una alta tasa de mortalidad y discapacidad permanente (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2021). En México, se reportan en promedio 4000 casos al año y en el 2022 se registraron 3725 casos de mordeduras de serpiente (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información, [SINAVE], 2022). En los primeros cuatro meses de 2023

se han registrado 560 casos (SINAVE, 2023), aunque se cree que estas cifras podrían ser mayores debido a que muchos casos no son reportados.

Las mordeduras de serpiente pueden tener graves consecuencias tanto en humanos como en animales, debido a las diferentes toxinas presentes en el veneno que pueden causar daño en múltiples órganos y sistemas. Se pueden presentar hemorragias potencialmente mortales, destrucción local de tejidos que puede llevar a discapacidades permanentes o la amputación de un miembro, parálisis neuromuscular, necrosis tisular, miólisis, cardiotoxicidad, lesiones renales agudas, trombosis, choque hipovolémico, entre otros (OMS, 2021).

El tratamiento actual contra la mordedura de serpientes consiste en la administración de suero antiofídico específico, el cual se elabora a partir de antígenos provenientes del veneno de serpientes y se obtiene a través de la inmunización de animales de laboratorio como caballos, quienes producen anticuerpos específicos contra las toxinas del veneno. El costo de estos tratamientos suele ser elevado, aunado a que este tipo de incidentes ocurre en zonas rurales donde la atención médica es limitada, la medicina tradicional ha sido utilizada como una alternativa para tratar las mordeduras de serpiente, siendo las plantas la opción más común (Houghton and Osibogun, 1993).

Se estima que más de 800 especies de plantas son utilizadas para el tratamiento de mordeduras de serpientes, la mayoría no han sido evaluadas científicamente (López y Pérez, 2009). Sin embargo, algunas plantas como *Euphorbia hirta* L. (Amos *et al.*, 2019), *Aristolochia sprucei* en Brasil (González *et al.*, 2010), *Brownea arisa*, *Reenealmia alpinia* en Colombia (Fernández *et al.*, 2010; Mack-Wen *et al.*, 2011), *Uncaria tometosa*, *Chaptalia nutans*, *Loasa speciosa* en Costa Rica (Badilla *et al.*, 2005), *Urospatha sagittifolia* en Ecuador (Vera *et al.*, 2022) y *Randia aculeata* en México (Gallardo *et al.*, 2022) han sido evaluadas y se ha demostrado su efectividad contra mordeduras de serpiente.

La familia Apocynaceae se encuentra entre las 12 familias más diversas en México (Alvarado-Cárdenas *et al.*, 2020) y es una de las familias que incluye especies utilizadas en el tratamiento de mordeduras de serpiente. Se han realizado estudios sobre *Mandevilla velutina* y *Tabernaemontana alternifolia*, ambas especies demostraron tener propiedades antiofídicas efectivas, neutralizando parcial o completamente los efectos locales y sistémicos provocados por los venenos de serpiente (Biondo *et al.*, 2003; Vineetha *et al.*, 2019). Por otro lado, *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin, también conocida como contrayerba, es una planta trepadora semi-leñosa utilizada en la medicina popular maya para tratar lesiones cutáneas de leishmaniasis, dolores de cabeza, trastornos nerviosos y mordeduras de serpiente (Pulido y Serralta, 1993). Aunque no existen estudios científicos que respalden su efectividad contra las mordeduras de serpiente, es importante verificar su actividad e identificar y estudiar los metabolitos secundarios que posean actividad antiofídica.

Justificación

Las mordeduras de serpiente son un problema de salud pública desatendido a nivel mundial debido a que el tratamiento es costoso y difícil de obtener. Una alternativa es el uso de especies vegetales como apoyo para el tratamiento de accidentes ofídicos. *Pentalinon*

andrieuxii (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin, puede tener la capacidad de controlar los efectos del veneno y contrarrestar sus efectos, así como poder mejorar los resultados del tratamiento de las víctimas y acelerar su recuperación, ya que es una planta utilizada tradicionalmente para contrarrestar el veneno de serpientes. Aunque este uso no cuenta con estudios científicos que respalden su efectividad, la identificación de los metabolitos secundarios con actividad antiofídica puede proporcionar información importante para desarrollar nuevos tratamientos más accesibles y económicos contra las mordeduras de serpiente.

Objetivos

Evaluar la actividad antiofídica de diferentes extractos de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin a partir de diferentes órganos de la planta, y determinar su potencial como tratamiento contra las mordeduras de serpiente.

Objetivos específicos:

1. Obtención de extractos crudos de hojas, tallos y raíces de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.
2. Evaluar la actividad antiofídica de los extractos de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin mediante pruebas que contrarresten efectos locales o sistémicos provocados venenos de serpiente.
3. Determinar la toxicidad de los extractos de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.
4. Analizar los resultados obtenidos y determinar la capacidad de los extractos de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin para neutralizar los efectos tóxicos del veneno de serpiente.
5. Aislar, purificar y caracterizar los metabolitos secundarios con actividad antiofídica mediante técnicas de espectrofotometría.

Hipótesis: *Pentalinon andrieuxii* posee metabolitos secundarios con actividad antiofídica que pueden ser utilizados como tratamiento para contrarrestar los efectos del veneno de serpientes.

Metas

1. Obtener los extractos de raíces, tallos y hojas de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin para evaluar su actividad antiofídica.
2. Identificar, aislar, purificar y caracterizar los compuestos químicos presentes en los extractos de *Pentalinon andrieuxii* que tienen actividad antiofídica.

Variables

- i. Recolección de información sobre el uso tradicional de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin contra mordeduras de serpientes.
- ii. Obtención de extractos con diferentes disolventes orgánicos y partes de la planta.
- iii. Pruebas de interacción veneno-extracto por electroforesis SDA-PAGE.

- vi. Obtención de la Dosis Letal Media (DL50).
- v. Pruebas de inhibición de actividad hemolítica indirecta.
- vi. Pruebas de inhibición del efecto coagulante.
- vii. Pruebas de inhibición del efecto proteolítico del veneno.
- viii. Perfil de metabolitos secundarios mediante técnicas cromatográficas (Placa fina, HPLC).

Resultados esperados

- i. Tres extractos crudos de las raíces, tallos y hojas de la planta *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.
- ii. Un manuscrito sobre las pruebas que contrarrestan los efectos locales o sistémicos provocados por venenos de serpiente, utilizando la dosis letal media de los extractos obtenidos.
- iii. Identificación de los metabolitos secundarios con actividad antiofídica.
- iv. Un manuscrito del perfil de metabolitos secundarios mediante técnicas cromatográficas.
- v. Un registro varietal de *Pentalinon andrieuxii* como variedad de uso común en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNVV-SNICS).
- vi. Un expediente de trámite de patente.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN 2: Optimización de la producción de *Pentalinon andrieuxii* a través de la aplicación de distintos métodos de propagación.

Antecedentes

Existen diversos métodos para reproducir o propagar especies vegetales, entre ellas se encuentran la propagación por semilla, esquejes, acodos entre otros. La propagación por semilla es mayormente determinada por las características fisiológicas y bioquímicas de la semilla, sin embargo, factores como el suelo, clima, competencia y depredadores influyen en el éxito de la propagación (Osuna *et al.*, 2017). La propagación por esquejes es una forma de multiplicación vegetativa más rápida en comparación de la multiplicación por semillas, aunque no es válida para todas las plantas ya que los esquejes de algunas plantas arraigan con dificultad o lentitud, permite ahorrar tiempo, no es necesario esperar a la madurez sexual, no requiere de estacionalidad larga, las plantas obtenidas pueden ser idénticas a la planta madre (Colombo, 2018). Por otro lado, la propagación por acodos se utiliza comúnmente en la propagación de plantas leñosas que no producen fácilmente semillas o en aquellas especies que no pueden arraigar a partir de esquejes de tallo o raíz o que tienen características deseables que deben ser conservadas en la nueva planta (Wilkinson *et al.*, 2014).

La producción de *Pentalinon andrieuxii* puede ser de gran interés para la industria farmacéutica debido a su potencial como tratamiento para las mordeduras de serpiente. Sin embargo, se desconoce si la producción de esta planta puede ser limitada debido a factores como la baja germinación de las semillas o la dificultad de su propagación vegetativa. Por

lo tanto, es importante investigar distintos métodos de reproducción que permitan una producción eficiente de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.

Justificación

La necesidad de obtener suficientes plantas de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin para su uso en la producción de extractos con actividad antifúngica, así como el desconocimiento del mejor método de propagación de esta, determina la importancia del estudio de la aplicación de distintos métodos de reproducción, para optimizar la producción de *Pentalinon andrieuxii* y con esto obtener una mayor cantidad de compuestos con potencial anti-veneno.

Objetivos

Evaluar distintos métodos de reproducción de *Pentalinon andrieuxii* para optimizar su producción.

Objetivos específicos:

- i. Evaluar y comparar los diferentes métodos de reproducción (semillas, esquejes y acodos.) de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.
- ii. Evaluar distintos tratamientos de escarificación de las semillas.
- iii. Analizar la tasa de supervivencia de las plantas y su crecimiento en cada método de reproducción.
- iv. Determinar el tiempo de desarrollo y producción de las plantas en cada método de reproducción.
- v. Establecer un protocolo de producción óptimo para la propagación de *Pentalinon andrieuxii* (mediante el método de reproducción más eficiente y efectivo).
- vi. De acuerdo con los métodos evaluados describir las diferentes etapas fenológicas de *Pentalinon andrieuxii*.

Hipótesis: La aplicación de distintos métodos de reproducción en *Pentalinon andrieuxii* permitirá aumentar la producción de la planta, en comparación del método de reproducción natural.

Metas

- i. Evaluar la efectividad de distintos métodos de reproducción en la optimización de la producción de *Pentalinon andrieuxii*.
- ii. Determinar el mejor tratamiento pre germinativo de las semillas.
- iii. Establecer las condiciones óptimas de cultivo para cada método de reproducción evaluado.
- iv. Documentar la mejor manera de propagar a *Pentalinon andrieuxii* con fines de explotación comercial.
- v. Documentar las diferentes etapas fenológicas de *Pentalinon andrieuxii* de acuerdo con los métodos de propagación evaluados.

Variables

- i. Identificar los requerimientos edáficos de *Pentalinon andrieuxii*.
- ii. Realizar ensayos de germinación de semillas con diferentes tratamientos de escarificación.
- iii. Evaluar distintos métodos de reproducción (semillas, esquejes y acodos).
- iv. Determinar las etapas fenológicas de la planta de acuerdo con los métodos de propagación evaluados.

Resultados esperados

- i. Un manuscrito sobre los requerimientos del cultivo de *Pentalinon andrieuxii* y la caracterización de los diferentes métodos de propagación.
- ii. Un protocolo de producción óptimo para la propagación de *Pentalinon andrieuxii* mediante el método de reproducción más eficiente y efectivo.
- iii. Un manuscrito describiendo las diferentes etapas fenológicas de *Pentalinon andrieuxii* de acuerdo con los métodos de propagación evaluados.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN 3: Evaluación integral del cultivo de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin: aspectos socioeconómicos, socioculturales, ambientales y comerciales.

Antecedentes

La importancia de la evaluación integral del cultivo de *Pentalinon andrieuxii* surge ante la necesidad de conocer el potencial socioeconómico, sociocultural, ambiental y comercial de esta especie vegetal. Actualmente, *Pentalinon andrieuxii* (se utiliza en la medicina tradicional en regiones del sur de México, principalmente para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea conocida comúnmente como ulcera de los chicleros (Chan-Bacab *et al.*, 2003), además, para tratar diversas enfermedades y dolencias, incluyendo mordeduras de serpiente (Pulido y Serralta, 1993). La producción de *Pentalinon andrieuxii* puede ser de gran interés debido a su potencial como tratamiento para las mordeduras de serpiente, sin embargo, se desconoce el impacto que podría tener su cultivo en las comunidades donde se encuentra.

Justificación

La evaluación integral del cultivo de *Pentalinon andrieuxii* aportará información que ayude a planear el establecimiento de un cultivo comercial, contribuyendo a su desarrollo sostenible dentro de comunidades rurales donde se encuentre presente.

Objetivos

Evaluar socioeconómica, sociocultural, ambiental y comercialmente el cultivo de *Pentalinon andrieuxii* con fines comerciales.

Objetivos específicos:

- i. Evaluar la viabilidad técnico-económica de la producción comercial de *Pentalinon andrieuxii*.

- ii. Evaluar la viabilidad sociocultural de la producción comercial de *Pentalinon andrieuxii*.
- iii. Analizar el impacto ambiental generado una producción comercial de *Pentalinon andrieuxii*.

Hipótesis: El cultivo de *Pentalinon andrieuxii* puede ser un cultivo sostenible y económicamente rentable.

Metas

- i. Obtener datos que ayuden a generar un plan de negocios para el cultivo de *Pentalinon andrieuxii* a gran escala.
- ii. Obtener alternativas para el diseño de un sistema de producción de *Pentalinon andrieuxii*.

Variables

- i. Analizar las variables socioeconómicas: costos de producción, ingresos y rentabilidad.
- ii. Analizar las variables socioculturales: conocimiento local sobre la planta y aceptación del cultivo.
- iii. Analizar las variables ambientales: impacto en el uso de suelo, en el uso del agua y en el ecosistema.
- iv. Analizar las variables comerciales: demanda, precios de venta, factores que afectan la comercialización y posibles redes de valor.

Resultados esperados

- i. Un manuscrito con alternativas que coadyuven al diseño de un sistema de producción sostenible de *Pentalinon andrieuxii*.
- ii. Un manuscrito sobre un plan de negocios del cultivo de *Pentalinon andrieuxii*.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN 4: Evaluación de los metabolitos secundarios con actividad antifúngica en diferentes etapas fenológicas de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin y de diferentes procedencias geográficas.

Antecedentes

Actualmente de las raíces de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) se han aislado esteroides, cumarinas y triterpenoides, derivados de pregnano, ácido betulínico, urechitol A y urechitol B (Domínguez-Carmona *et al.*, 2010; Yam-Puc *et al.*, 2009; Yam-Puc *et al.*, 2012); mientras que de las hojas se han aislado el ácido betulínico, acetato de ácido betulínico, éster metílico de ácido betulínico y la betulina (Domínguez-Carmona *et al.*, 2010). Las plantas al ser organismos sésiles han desarrollado mecanismos para sobrevivir a condiciones bióticas y abióticas. Dentro de estos mecanismos destaca el tener metabolismos diferentes, uno primario para sintetizar las moléculas requeridas para desarrollarse y reproducirse, y un secundario a partir del cual sintetizan infinidad de compuestos orgánicos como alcaloides,

taninos, saponinas, fenoles, terpenoides, esteroides, aceites esenciales, entre otros. Estos compuestos se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, a menudo su producción está ligada a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies, siendo también determinante el ambiente en el que las plantas se desarrollan (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Tanto los estados de desarrollo de los organismos como el ambiente modulan la diversidad de metabolitos secundarios, estos pueden estar restringidos a etapas específicas de desarrollo, es decir depender de una fase en la que están involucrados. Su biosíntesis puede ser constitutiva o inducida por factores endógenos como las etapas fenológicas. La expresión genética que induce su biosíntesis ocurre en sitios y tiempos específicos. Estas condiciones espaciotemporales son diferentes para cada clase de metabolito secundario e incluso pueden serlo para un mismo metabolito secundario entre las especies vegetales que lo producen (Anaya *et al.*, 2016). De tal manera que es importante evaluar la composición fitoquímica de las plantas en diferentes estados fenológicos y de diferentes procedencias geográficas debido a la variación que puede haber en la composición química de la planta a medida que ésta madura y se desarrolla, lo que podría influir en su actividad antiofídica.

Justificación

La evaluación de los metabolitos secundarios con actividad antiofídica en diferentes etapas fenológicas de *Pentalinon andrieuxii* y de diferentes procedencias geográficas puede contribuir a determinar el momento óptimo para la cosecha y la obtención de los compuestos con mayor actividad antiofídica.

Objetivo

Determinar la mejor época de cosecha y producción de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin de acuerdo con la presencia y la concentración de los metabolitos secundarios con actividad antiofídica en diferentes etapas fenológicas de la planta y de diferentes procedencias geográficas.

Objetivos específicos:

- i. Obtener extractos orgánicos de plantas de *Pentalinon andrieuxii* en sus diferentes etapas de crecimiento y de diferentes procedencias geográficas.
- ii. Realizar los perfiles fitoquímicos de extractos orgánicos de *Pentalinon andrieuxii*.
- iii. Análisis de la presencia de metabolitos secundarios con actividad antiofídica en *Pentalinon andrieuxii* de acuerdo con la etapa fenológica del material vegetal.
- iv. Comparar los compuestos químicos presentes en las distintas etapas de crecimiento de *Pentalinon andrieuxii*.
- v. Comparar los compuestos químicos presentes en las plantas de *Pentalinon andrieuxii* de diferentes procedencias geográficas.
- vi. Identificar en que etapa fenológica de *Pentalinon andrieuxii* hay mayor presencia de compuestos antiofídicos.

Hipótesis: La presencia y cantidad de compuestos antiofídicos en *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin cambia de acuerdo con el estado fenológico de la planta o procedencia geográfica de la misma.

Metas

- i. Recolectar plantas de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin de diferentes procedencias geográficas.
- ii. Obtener plantas de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin en diferente estado fenológico.
- iii. Obtener extractos orgánicos de las distintas etapas fenológicas de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin y de las distintas procedencias geográficas.
- iv. Obtener la caracterización del perfil fitoquímico de los distintos extractos orgánicos.
- v. Detectar en qué etapa fenológica de la planta se obtiene una mayor cantidad de compuestos antiofídicos.
- vi. Detectar cambios en la composición de metabolitos secundarios asociado a la diferencia de procedencias geográficas.

Variables

- i. Determinar las etapas fenológicas a evaluar: juvenil (erguida), adulta (trepadora), floración.
- ii. Elaboración de extractos orgánicos con plantas de cada etapa fenológica y plantas de cada procedencia geográfica.
- iii. Evaluar la presencia o ausencia de los metabolitos secundarios específicos con actividad antiofídica en cada etapa fenológica y procedencia geográfica de la planta.
- iv. Medición de la cantidad de materia prima que se puede obtener de cada etapa fenológica y su relación con la presencia y concentración de los metabolitos secundarios con actividad antiofídica.

Resultados esperados

- i. Un manuscrito descriptivo del cambio de compuestos secundarios en *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin de acuerdo con su etapa fenológica.
- ii. Un manuscrito descriptivo del cambio de compuestos secundarios en *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin de acuerdo con su procedencia geográfica.
- iii. Un plan de optimización de extracción de compuestos antiofídicos de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN 5: Obtención de compuestos antiofídicos a partir de plantas de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin mediante técnicas biotecnológicas.

Antecedentes

Entre las principales herramientas biotecnológicas utilizadas para incrementar el rendimiento de producción de los metabolitos secundarios se encuentran la extracción de los

metabolitos secundarios directamente de los tejidos de las plantas cultivadas, el uso de cultivos de células y tejidos para su producción (suspensiones celulares y raíces pilosas) y la ingeniería metabólica. De estos el cultivo de células en suspensión y de raíces transformadas ofrece una oportunidad para la producción de metabolitos secundarios y la ventaja que conlleva no utilizar cultivos transgénicos (De la Cruz y Gonzales, 2009).

En las últimas décadas han surgido alternativas para obtener compuestos secundarios de interés sin necesidad de utilizar plantas completas a través del cultivo de células vegetales (Arias *et al.*, 2009). Con el cultivo de células y tejidos vegetales *in vitro* se pueden producir sustancias de uso farmacéutico, agrícola o industrial, cuya producción comercial por los métodos convencionales resulta difícil de obtener o económicamente poco viable. Con el uso de cultivos *in vitro* es posible aumentar el rendimiento de los principios activos presentes en las plantas, así como controlar adecuadamente su producción (Robert *et al.*, 1991).

De los Santos (2019), realizó investigaciones para aumentar la producción de ácido betulínico a través del uso de raíces transformadas y el uso de elicitores químicos (ácido salicílico y el jasmonato de metilo) en *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin concluyendo que el jasmonato de metilo incrementa en un 39 y en un 54% la producción de ácido betulínico a los 6 y 9 días de aplicación. De tal manera que la aplicación de técnicas biotecnológicas puede ser una opción para la producción de compuestos con actividad antiofídica.

Justificación

Las mordeduras de serpientes son un problema de salud pública en todo el mundo, especialmente en áreas rurales, donde el acceso a tratamientos antiofídicos es limitado, por lo tanto, la búsqueda de nuevas fuentes de antídotos antiofídicos es un área de investigación importante para contrarrestar este problema. *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin es una planta utilizada tradicionalmente para tratar las mordeduras de serpientes. El uso de herramientas biotecnológicas ofrece una alternativa para la producción de compuestos antiofídicos a mayor escala. La producción de compuestos antiofídicos a partir de plantas cultivadas *in vitro* ofrece varias ventajas, como la eliminación del uso de plantas completas y la producción constante de metabolitos secundarios. Por lo tanto, la obtención de compuestos antiofídicos a partir de plantas de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin mediante técnicas biotecnológicas puede ser una opción eficiente para la obtención de metabolitos con actividad antiofídica.

Objetivo

Evaluar técnicas biotecnológicas aplicadas a *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin para la obtención de compuestos con actividad antiofídica.

Objetivos específicos:

- i. Establecer cultivos *in vitro* de células y tejidos (cultivo de células en suspensión, cultivo de raíces transformadas) con plantas de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.).

- ii. Evaluar el efecto de la aplicación de elicitores químicos sobre la producción de compuestos con actividad antiofídica de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.).
- iii. Determinar la presencia de compuestos antiofídicos en las células cultivadas y en el cultivo de raíces transformadas con los diferentes elicitores químicos empleados en la producción de compuestos con actividad antiofídica.
- iv. Caracterizar el crecimiento y la producción de compuestos antiofídicos del cultivo de células en suspensión, cultivo de raíces transformadas.

Hipótesis: La aplicación de diferentes técnicas biotecnológicas como el uso de elicitores químicos en el cultivo de células en suspensión o el cultivo de raíces transformadas de *Pentalinon andrieuxii* maximiza la producción de compuestos con actividad antiofídica.

Metas

- i. Evaluar la producción de metabolitos secundarios con actividad antiofídica de cultivo *in vitro* de células en suspensión de *Pentalinon andrieuxii*.
- ii. Evaluar la producción de metabolitos secundarios con actividad antiofídica del cultivo de raíces transformadas de *Pentalinon andrieuxii*.
- iii. Evaluar la producción de metabolitos secundarios con actividad antiofídica con el uso de distintos elicitores químicos.

Variables

- i. Selección de plantas sanas para obtener plantas madre.
- ii. Realizar los cultivos celulares con órganos (hoja, tallo o raíz) provenientes de plantas madre.
- iii. Evaluar diferentes medios de cultivos con diferente composición para inducir cambios en el crecimiento y en la producción de metabolitos secundarios con actividad antiofídica
- iv. Análisis cromatográfico para evaluar el contenido de diversos compuestos en una muestra.
- v. Análisis de la rentabilidad de la producción de los compuestos antiofídicos a gran escala mediante el uso de técnicas biotecnológicas.

Resultados esperados

Un manuscrito del protocolo para la producción a gran escala de metabolitos antiofídicos de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN 6: Análisis de la actividad anticoagulante de metabolitos secundarios de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.

Antecedentes

Los anticoagulantes son un grupo de sustancias de distinta naturaleza química relacionados por su efecto biológico, algunos son capaces de inhibir la cascada de la

coagulación y otros actúan mediante su interacción con otras proteínas o actuando en otras vías metabólicas, alterando el funcionamiento de la cascada de la coagulación (Waizel-Bucay *et al.* 2017).

De acuerdo con Hoffman y Monroe (2001), la coagulación se produce en tres etapas interrelacionadas: la fase de iniciación, que tiene lugar a nivel de células productoras de factor tisular, como fibroblastos o monocitos, y conlleva la generación de los factores Xa, IXa, y pequeñas cantidades de trombina, suficientes para iniciar el proceso. La fase de amplificación que se traslada a la superficie de las plaquetas, activadas por la trombina generada y acumulan factores y cofactores en su superficie, permitiendo el ensamblaje necesario para que tengan lugar las reacciones enzimáticas. Finalmente, en la fase de propagación, las proteasas se combinan con los cofactores en la superficie plaquetaria, promoviendo la generación de grandes cantidades de trombina que favorecen la formación de fibrina y su polimerización para constituir un coagulo estable. Diversas plantas han sido evaluadas por su actividad anticoagulante, algunas de ellas son *Curcuma longa* L., *Croton malambo*, *Acalypha hispida*, *Allium sativum* L., *Allium cepa* L., *Zingiber officinale* Roscoe (Srivastava, 1984; Ruiz-Baquero *et al.*, 2021). La investigación sobre la actividad anticoagulante de metabolitos secundarios de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin puede proporcionar nuevas alternativas para el desarrollo de anticoagulantes naturales.

Justificación

La primera causa de muerte a nivel mundial se atribuye a las enfermedades cardiovasculares, como la cardiopatía isquémica, entre otras (Castaño *et al.*, 2020). Por lo cual es importante encontrar nuevas fuentes de anticoagulantes naturales, ya que estos compuestos son ampliamente utilizados en medicina para prevenir y tratar enfermedades cardiovasculares y trombóticas. *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin es una planta medicinal utilizada en la medicina tradicional en México con potencial como fuente de compuestos con actividad anticoagulante. Por lo tanto, es importante investigar los metabolitos secundarios presentes en esta planta y su actividad anticoagulante potencial.

Objetivo

Evaluar la actividad anticoagulante de metabolitos secundarios presentes en *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin para la obtención de un producto comercial.

Objetivos específicos:

- i. Evaluar la actividad moduladora de la coagulación sanguínea *in vitro* de metabolitos secundarios de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.
- ii. Evaluación de los efectos anticoagulantes de metabolitos secundarios de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin en sistemas vivos.

Hipótesis: Metabolitos secundarios de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin tienen efectos anticoagulantes.

Metas

- i. Evaluación *in vitro* la actividad anticoagulante de fracciones provenientes de extractos de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin por medio de los ensayos de tiempo de protrombina (TP) y análisis del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa).
- ii. Evaluación *in vivo* por técnicas histológicas y hematológicas la/las fracciones más activa en los ensayos de TP y TTPA.
- iii. Diseño de un producto anticoagulante con los compuestos activos de *Pentalinon andrieuxii*.

Variables

- i. Análisis del tiempo de protrombina con INR
- ii. Análisis del tiempo de tromboplastina parcial activada
- iii. Cálculo de la concentración necesaria de muestra para obtener un efecto anticoagulante
- iv. Evaluación de la toxicidad y seguridad de la muestra antes de su uso terapéutico

Resultados esperados

- i. Un manuscrito de las pruebas *in vitro* e *in vivo* de fracciones provenientes de extractos de *Pentalinon andrieuxii*.
- ii. Un modelo *in vivo* de efecto anticoagulante de *Pentalinon andrieuxii*.
- iii. Diseño de un producto anticoagulante.
- iv. Un expediente de trámite de patente.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN 7: Desarrollo de un suero antiofídico a partir de metabolitos de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.

Antecedentes

México es el país con el mayor número de especies de serpientes venenosas en el continente americano. Las serpientes venenosas se clasifican dentro de la familia *Viperidae* y *Elapidae*. Existe una familia denominada *Colubridae*, estas serpientes son semivenenosas. En América Latina, la prevalencia de accidentes ofídicos más alta es causada por serpientes de la familia *Viperidae*, donde se incluyen las serpientes de cascabel (*Crotalus*). (Neri-Castro *et al.*, 2020). Las especies de mayor importancia médica en Norte América son *Agkistrodon bilineatus*, *Agkistrodon contortrix*, *Agkistrodon piscivorus*, *Agkistrodon taylori*; *Bothrops asper*; *Crotalus adamanteus*, *Crotalus atrox*, *Crotalus basiliscus*, *Crotalus culminatus*, *Crotalus horridus*, *Crotalus oreganus*, *Crotalus simus*, *Crotalus scutulatus*, *Crotalus molossus*, *Crotalus viridis*; *Metlapilcoatlus nummifer*; *Micrurus diastema*, *Micrurus elegans*, (World Health Organization [WHO], 2016; Almaraz-Vidal, 2017). Las mordeduras de serpiente son un problema de salud pública, millones de personas son afectadas anualmente causando una alta tasa de mortalidad y discapacidad permanente (OMS, 2021). Los sueros antiofídicos constituyen el recurso terapéutico fundamental para el tratamiento de los accidentes ofídicos (Gutiérrez *et al.*, 1988). A distintas plantas se les atribuye la capacidad de aliviar uno o varios

síntomas complejos como el dolor, sangrado, inflamación, infección o incluso el mismo envenenamiento (Torres *et al.*, 2015). Sin embargo, se requiere de más investigación para evaluar la efectividad de los metabolitos de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin como base para el desarrollo de un suero antiofídico eficaz y seguro.

Justificación

El desarrollo de sueros antiofídicos a partir de metabolitos provenientes de plantas se basa en la necesidad de tratamientos efectivos para las mordeduras de serpientes venenosas, que representan un problema de salud pública en algunas regiones del mundo. A pesar de que existen sueros antiofídicos comerciales, su producción y suministro son limitados, especialmente en áreas remotas y de bajos ingresos, lo que puede resultar en retrasos en el tratamiento y aumento de la mortalidad. Por lo tanto, el desarrollo de sueros antiofídicos más accesibles y económicos puede mejorar significativamente la atención médica y salvar vidas. *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin es una planta medicinal utilizada en la medicina tradicional en México con potencial como fuente de metabolitos secundarios capaces de disminuir los efectos de mordeduras de serpiente.

Objetivo

Evaluar *in vitro* e *in vivo* diferentes venenos de serpientes con diferentes concentraciones de metabolitos secundarios de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin para la elaboración de un suero antiofídico.

Objetivos específicos:

- i. Evaluar distintas concentraciones de metabolitos secundarios de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.
- ii. Evaluar los metabolitos secundarios con actividad antiofídica con venenos de distintas serpientes y distintos animales ponzoñosos.
- iii. Realizar pruebas de su eficacia y seguridad en estudios preclínicos y clínicos.

Hipótesis: Los metabolitos secundarios de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin con actividad antiofídica contrarrestan distintos tipos de veneno.

Metas

- i. Obtener la concentración mínima efectiva que contrarreste al menos tres venenos diferentes.
- ii. Diseñar composiciones y formulaciones para contrarrestar los efectos de distintos tipos de veneno de serpiente.

Variables

- i. Formular y producir un suero antiofídico a partir de los metabolitos con actividad antiofídica procedentes de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin.
- ii. Evaluar la eficacia del suero en pruebas *in vitro* e *in vivo* con diferentes venenos de serpientes locales.

- iii. Pruebas de toxicidad en animales de laboratorio para evaluar la seguridad del suero.
- iv. Realizar estudios preclínicos y clínicos.
- v. Evaluar costos de producción y registro legal.

Resultados esperados

- i. Un manuscrito sobre la efectividad de metabolitos secundarios de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin contra distintos tipos de veneno.
- ii. Diseño de un producto anti-veneno comercial.
- iii. Un expediente de trámite de patente.

Referencias

- Almaraz-Vidal, D. (2017). Serpientes de importancia médica y accidentes ofídicos en el municipio de Tezonapa, Veracruz (2003-2016). *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 5(1), 111-117. <https://revistabioagro.mx/index.php/revista/article/view/101/116>
- Alvarado-Cárdenas, L.O., Lozada-Pérez, L., Islas-Hernández, C. S., Cortez, E. B., Maya-Mandujano, K. G., y Chávez-Hernández, M. G. (2020). Apocináceas de ayer y hoy. Conocimiento histórico y reevaluación de la diversidad y distribución de Apocynaceae en México. *Botanical Sciences*, 98(2), 393-416. <https://doi.org/10.17129/botsci.2525>
- Amos, S. R., Dhanaraj, P. y R. S. David, Paul Raj (2019). Strategy for early callus induction and identification of anti snake venom triterpenoids from plant extracts and suspension culture of *Euphorbia hirta* L. *Biotech*, 9, 266. 10.1007/s13205-019-1790-9
- Anaya, L. A. L., Espinosa-García F.J., Reigosa-Roger, M.J. (2016). Ecología química y aleopatía: avances y perspectivas. Plaza y Valdés.
- Arias Zabala, M., Angarita Velásquez, M. J., Aguirre Cardona, A. M., Restrepo Flórez, J. M., y Montoya Vallejo, C. (2009). Estrategias para incrementar la producción de metabolitos secundarios en cultivos de células vegetales. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 62(1), 4881-4895. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472009000100015&lng=en&tlng=es.
- Ávalos, G. A. y Pérez-Urria, C.E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*, 2(3), 119-145. https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
- Badilla, B., Chaves, F., Mora, G., y Poveda, L.J. (2005). Edema induced by *Bothrops asper* (Squamata: Viperidae) snake venom and its inhibition by Costa Rican plant extracts. *Biología Tropical*, 54, 245-252. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442006000200001
- Biondo, R., Pereira, S.A.M., Marcussi, S., Pereira, S. P., França, C. S., Soares, M. A. (2003). Inhibition of enzymatic and pharmacological activities of some snake venoms and toxins by *Mandevilla velutina* (Apocynaceae) aqueous extract. *Biochimie*, 85(10), 1017-1025. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(03\)00138-X](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(03)00138-X).
- Castaño, D. M., Quesada, M. C., y Guerrero, A. N. (2020). Historia de los anticoagulantes y su uso clínico en el presente. *Revista Médica Sinergia*, 5(2), e365-e365. <https://doi.org/10.31434/rms.v5i2.365>
- Chan-Bacab, M., Balanza, E., Deharo, E., Muñoz, V., García, R., & Peña-Rodríguez, L. (2003). Variation of leishmanicidal activity in four populations of *Urechites andrieuxii*. *Journal of Ethnopharmacology*, 86(2-3), 243-247. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00011-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00011-4)
- Colombo, A. (2018). La reproducción por esquejes. Editorial De Vecchi
- De la Cruz, C.I. y Gonzalez, E.A.R. (2009). Biotecnología aplicada a la producción de metabolitos secundarios. *Lacandonia, Rev. Ciencias UNICACH* 3(2): 59-65. https://www.researchgate.net/publication/275716636_Biotecnologia_aplicada_a_la_produccion_de_metabolitos_secundarios
- De los Santos, C.J.E. (2019). Evaluación de la producción de ácido betulínico en raíces transformadas de *Pentalinon andrieuxii* (Müll. Arg.) Hansen & Wunderlin (Tesis Maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán). https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1621/1/PCB_M_Tesis_2019_Santos_Castillo_José_Esteban_de_los.pdf
- Domínguez-Carmona, D., Escalante-Erosa, F., García-Sosa, K., Ruiz-Pinell, G., Gutierrez-Yapu, D., Chan-Bacab, M., & Peña-Rodríguez, L. (2010). Antiprotozoal activity of Betulinin acid derivatives. *Phytomedicine*, 17, 379-382. 10.1016/j.phymed.2009.08.002

- Fernández, C. M., Ortiz, C.W.F., Pereáñez, J. J.A. y Martínez, R.D. (2010). Evaluación de las propiedades antifúngicas del extracto etanólico y fracciones obtenidas de *Renealmia alpinia* (rottb) mass (zingiberaceae) cultivada *in vitro*. *VITAE*, 17,75-82. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042010000100010
- Gallardo, C. C. Á., Castillo, H. M. del C., Ayala, H. M., Sánchez, M. H. A. y Cano, E. E. (2022). Effect of the ethanolic extract of *Randia aculeata*'s fruit in heart and skeletal muscle oxidative stress caused by snake venom. *Revista de Medicina e Investigación UAEMéx*, 10(1), 36-42. <https://doi.org/10.36677/medicinainvestigacion.v10i1.18766>
- González, R., Quintero, A., Peporine, N., Tomich, C. y Soares, A. (2010). Evaluación de la actividad antifúngica de *Aristolochia sprucei*: aislamiento y caracterización estructural de compuesto bioactivo. XIII Congreso nacional de ciencia y tecnología. Panamá. pp: 488. 10.13140/RG.2.1.2823.696
- Gutiérrez, J. M., Lomonte, B., Rojas Céspedes, G., Gené, J. A., Chaves Mora, F., Estrada Umaña, R., ... & Robles, A. (1988). El suero antifúngico polivalente producido en Costa Rica: estabilidad y capacidad neutralizante. https://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/72947/1988_RevCostCiencMed_Gutierrez_antivenenos_ICP_revison.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Hoffman, M., & Monroe III, D. M. (2001). A cell-based model of hemostasis. *Thrombosis and haemostasis*, 85(06), 958-965. 10.1055/s-0037-1615947
- Houghton P., and Osibogun I. (1993). Flowering plants used against snakebite. *Journal of Ethnopharmacology*, 39, 1-29. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(93\)90047-9](https://doi.org/10.1016/0378-8741(93)90047-9)
- López, J. y Pérez, J. (2009). Plantas alexitéricas: antidotos vegetales contra las picaduras de serpientes. *Medicina Naturalista*, 3, 17-24.
- Mack-Wen, G. V. L., Rico, G. L. B., Alarcón, P. J. C. y Pereáñez, J. J. A. (2011). Inhibición *in vitro* del veneno de *Bothrops asper* con extractos etanólicos de *Brownea ariza* B. (caesalpinaceae). *VITAE*, 18, 43-48. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042011000100006
- Neri-Castro, E., Bénard-Valle, M., Alagón, A., Gil, G., de León, J. L., & Borja, M. (2020). Serpientes Venenosas en México: Una Revisión al estudio de los venenos, los antivenenos y la epidemiología. *Revista Latinoamericana de Herpetología*, 3(2), 5-22.
- Organización Mundial de la Salud (17 de mayo de 2021). Mordeduras de serpientes venenosas. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/snakebite-envenoming>
- Osuna F., H. R., Osuna F., M., Fierro A., A. (2017). Manual de propagación de plantas superiores. Universidad Autónoma Metropolitana. https://www.casadelibrosabiertos.uam.mx/contenido/contenido/Libroelectronico/manual_plantas.pdf
- Pulido M.T. y Serralta P. L. 1993. Lista anotada de las plantas medicinales de uso actual en el estado de Quintana Roo, México; Centro de Investigaciones de Quintana Roo, Chetumal Quintana Roo. México, p.105.
- Pulido Salas, M.T. y Serralta Peraza, L. E. del S. (1993). Lista anotada de las plantas medicinales de uso actual en el Estado de Quintana Roo, México. Centro de Investigaciones de Quintana Roo.
- Robert, M.L., Reyes, J., & Loyola, V. M. (1991). Biosíntesis y bioconversión de metabolitos secundarios por células cultivadas *in vitro*. *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones*, (151), 211. https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Cultivo%20de%20Tejidos%20en%20la%20Agricultura/capitulo9_parte1.pdf
- Ruiz-Baquero, J., Camacho-Romero, O., Bolívar-González, S., y Castro-Zafra, Á. (2021). Actividad anticoagulante *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de dos especies de la familia Euphorbiaceae. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 24(2). <https://doi.org/10.31910/rudca.v24.n2.2021.1681>
- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información (2022). Boletín epidemiológico. Ministerio de Medio Ambiente. <http://www.ideam.gov.co/web/atencion-y-participacion-ciudadana/cambio-climatico>
- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información (2023). Boletín epidemiológico. Ministerio de Medio Ambiente. <http://www.ideam.gov.co/web/atencion-y-participacion-ciudadana/cambio-climatico>
- Srivastava, K. C. (1984). Effects of aqueous extracts of onion, garlic and ginger on platelet aggregation and metabolism of arachidonic acid in the blood vascular system: *in vitro* study. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine*, 13(2), 227-235. [https://doi.org/10.1016/0262-1746\(84\)90014-3](https://doi.org/10.1016/0262-1746(84)90014-3)
- Torres, A. M., Camargo, F., Ricciardi Verrastro, B. V., Ricciardi, G., & Dellacasa, E. (2015). Plantas como antiveneno: del mito al logos. Ediciones Universitarias. https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/10977/1/dellacasa_plantas_como_antiveneno.pdf

- Vera, P. A. L., Sacoto, T. J. D., Hernández, A. J. A., Moreno, A., Peñuela, M. M. C., Salazar, V. D., Mogollón, N. G. S. and Almeida, J. R. (2022). A first look at the inhibitory potential of *Urospatha sagittifolia* (Araceae) ethanolic extract for *Bothrops atrox* snakebite envenomation. *Toxins*, 14, 496. <https://doi.org/10.3390/toxins14070496>
- Vineetha, M. S., Bhavya, J., and More, S. S. (2019). Inhibition of pharmacological and toxic effects of *Echis carinatus* venom by *Tabernaemontana alternifolia* root extract. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 10(1), 48-58. <https://nopr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/50426/1/IJNPR%2010%281%29%2048-58.pdf>
- Waizel-Bucay, J., Waizel-Haiat, S., y Revilla-Peñaloza, F. (2017). Los productos herbolarios, la coagulación sanguínea y la cirugía otorrinolaringológica. In *Anales de Otorrinolaringología Mexicana*, 62 (2), 115-142. <https://www.medigraphic.com/pdfs/anaotomex/aom-2017/aom172f.pdf>
- Wilkinson, K. M., Landis, T. D., Haase, D. L., Brian F. Daley, B. F. and Dumroese R. K. (2014). Manual de Viveros Tropicales Una Guía para Iniciar y Operar un Vivero para Plantas Nativas y Tradicionales. Servicio Forestal del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. <https://rngr.net/publications/manual-de-viveros-tropicales>
- World Health Organization. (2016). Guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins. *WHO Press Genève: OMS*, 1-141. <http://www.pashudhanpraharee.com/wp-content/uploads/2021/11/Guidelines-for-the-Production-Control-and-Regulation-of-Snake-Antivenom-Immunoglobulins.pdf>
- Yam-Puc, A., Escalante-Erosa, F., Pech-Lopez, M., Chan-Bacab, M. J., Arunachalampillai, A., Wendt, O. F., Sterner, O., & Peña-Rodríguez, L.M (2009). Trinorsesquiterpenoids from the Root Extract of *Pentalinon andrieuxii*. *Journal of natural products*, 72(4), 745-748. <https://doi.org/10.1021/np800554n>
- Yam-Puc, A., Chee-González, L., Escalante-Erosa, F., Chan-Bacab, M., Arunachalampillai, A., Wendt, O., Sterner, O., Peña-Rodríguez, L.M., & Godoy-Hernández, G. (2012). Steroids from the root extract of *Pentalinon andrieuxii*. *Phytochemistry Letters*, 5(1), 45-48. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.09.004>

