



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco



DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
SISTEMAS BIOLÓGICOS

INFORME DE CONCLUSIÓN DEL SERVICIO SOCIAL

**“ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES BIOACTIVAS DE
LA CORTEZA DE *Amphipterygium adstringens*”**

PARRA NIETO CARLOS URIEL

MATRICULA: 2172030805

**DR. ISRAEL CASTILLO
JUAREZ**

**DR. JUAN FRANCISCO
PALACIOS ESPINOSA**



INTRODUCCION

El colegio de postgraduados es una institución educativa que genera, difunde y aplica conocimiento para el manejo sustentable de los recursos naturales, la producción de alimentos nutritivos e inoctrinos, y el mejoramiento de la calidad de vida de la sociedad. También es una comunidad comprometida con la sociedad que fomenta el desarrollo personal, la creatividad académica y la generación de conocimiento colectivo para trascender al existente, a las ideologías y a la estructura disciplinaria, reafirma los valores de la sociedad cultivando y enriqueciendo la mente y el espíritu de los individuos. Sus modelos educativos y organizaciones están actualizados y en superación permanente, sus estudiantes, profesores, exalumnos y personal de apoyo buscan esos objetivos en un contexto de libertad con responsabilidad. Impulsa la iniciativa, la integridad y la excelencia académica en un ambiente de humanismo, honradez, trabajo creativo y civilidad. Sus hallazgos como Centro Público de Investigación están al servicio de la sociedad.

Una de las líneas de investigación que se desarrollan en la institución, se centra en el estudio de las propiedades antimicrobianas de especies vegetales, como una alternativa a la crisis de salud mundial relacionada con la resistencia a los antibióticos. La identificación de nuevos blancos terapéuticos y mecanismos de acción relacionados como son las propiedades antivirulencia, es uno de los principales temas de interés del grupo al que me incorporé.

MARCO TEÓRICO

Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente causado principalmente por la adaptabilidad natural o adquirida a los fármacos antibacterianos y es favorecida por el uso indiscriminado de antibióticos (López-Jácome *et al.*, 2019).

Las bacterias han adoptado diversos mecanismos de evasión a la acción de los antibióticos, algunos de estos se enlistan a continuación: 1.- impidiendo su acceso a los sitios blanco por reducción de permeabilidad de membranas, 2.- incrementando la expresión de bombas de expulsión, 3.- degradación



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco



e inactivación enzimática, 4.- modificación de fármacos, y/o cambios de sitios objetivos de antibióticos (Zhou et al., 2015; González et al., 2019).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró que la resistencia a los antibióticos es una de las principales amenazas de salud pública a las que se enfrenta la humanidad, se estima que matará a más de diez millones de personas para el año 2050 si se mantiene el uso inadecuado de estos fármacos, debido a que los microorganismos han desarrollado mecanismos de resistencia que ponen en peligro nuestra capacidad para tratar las enfermedades infecciosas comunes (Alós, 2015; OMS, 2020).

Esta problemática global ha llevado a la comunidad científica a describir algunos de los mecanismos de resistencia en los que está implicado el intercambio de material genético en bacterias (Mendoza, 2011), lo que abre paso a utilizar diversas herramientas como lo es el uso de plantas medicinales o fármacos que ayuden a la eliminación de las bacterias.

*Corteza de cuachalalate (*Amphypterygium adstringens*)*

Desde tiempos ancestrales, el humano ha utilizado las plantas para tratar enfermedades infecciosas, algunas de las cuales han sido estudiadas científicamente y demostrado su capacidad antimicrobiana (Ríos y Recio, 2005). Hoy en día, un gran número de personas en diversas partes del mundo continúa utilizando las plantas para tratar diferentes enfermedades, incluyendo las de origen infeccioso (Díaz-Núñez *et al.*, 2021).

Amphypterygium adstringens Schiede ex Schlecht (Anacardiaceae) es una especie endémica de México conocida comúnmente como “cuachalalate”. Es un árbol dioico de aproximadamente 5 a 10 metros de altura con el tronco retorcido. Su distribución es en la costa del Pacífico Mexicano, desde Nayarit hasta Oaxaca, y otros estados como Puebla y Morelos (Sotelo-Barrera *et al.*, 2022).

La corteza del tallo del árbol se utiliza popularmente para tratar más de 25 padecimientos, que incluyen gastritis, úlceras pépticas, enfermedades de la piel y heridas. Las principales clases de compuestos presentes en la corteza del tallo incluyen terpenos y esteroides, entre los que destacan el ácido 3-*epi*-oleanólico, el β - sitosterol, el ácido masticadienólico y el ácido 3 α -hidroximasticadienólico (Sotelo-Barrera *et al.*, 2022).

Diversos extractos orgánicos, así como los triterpenos y ácidos anacárdicos se ha demostrado poseen propiedades bioactivas relacionada con su capacidad gastroprotectora, antiulcerosa, antimicrobiana y anticancerígena (Sotelo-Barrera *et al.*, 2022).



Fitoquímicos antivirulencia

Dentro de los mecanismos de acción de tipo antibacteriano, recientemente el de tipo antivirulencia ha tomado gran relevancia, ya que consiste en bloquear los factores de virulencia bacterianos (responsables del establecimiento y el daño) sin interferir directamente en su crecimiento. Por lo cual, a diferencia de los bactericidas que generan una fuerte presión de selección, se cree que los antivirulencia inducen una menor generación de resistencia (Díaz-Núñez *et al.*, 2021).

Dentro de los productos naturales, las especies vegetales se han posicionado como una de las principales fuentes donde se han identificado fitoquímicos con propiedades antivirulencia. En particular, los resultados obtenidos de los estudios de las propiedades antivirulencia de especies mexicanas endémicas son prometedores para el desarrollo de nuevos antibacterianos (Díaz-Núñez *et al.*, 2021). Tal es el caso del cuachalalate, en los que se ha identificado extractos orgánicos y compuestos con capacidad antivirulencia (Castillo-Juárez *et al.*, 2013) y antipatogénica (Gómez-Salgado *et al.*, 2024).

Para el caso de las propiedades antivirulencia y antipatogénicas se han reportado a los extractos de corteza preparados con acetato de etilo (AcEtO) y hexano (HEX), como los activos; los ácidos anacárdicos como uno de los metabolitos responsables (Castillo-Juárez *et al.*, 2013; González-Islas *et al.*, 2019; Gómez-Salgado *et al.*, 2024).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El estudio de los productos naturales para la obtención de metabolitos bioactivos, en particular los bactericidas, han sido muy importante (Monreal-García *et al.*, 2013). Sin embargo, el aumento en la aparición de resistencia y el bajo interés de la industria por el desarrollo de nuevos antibióticos han generado que actualmente no se cuente con tratamientos eficientes para eliminar cepas resistentes (Castillo-Juárez *et al.*, 2017). Ante este panorama, se ha propuesto el desarrollo de terapias antimicrobianas de tipo antivirulencia, con las cuales se busca eliminar la capacidad dañina de las bacterias sin afectar su viabilidad (Díaz-Núñez *et al.*, 2021). A diferencia de los bactericidas clásicos que generan una fuerte presión de selección y generación de resistencia, se plantea que las moléculas antivirulencia al no afectar la viabilidad bacteriana no la inducirán (Castillo-Juárez *et al.*, 2015). Hasta el momento, los productos naturales de origen vegetal son la principal fuente descrita de metabolitos antivirulencia. Una de ellas es *Amphypterygium adstringens*, es un árbol endémico de México que se ha descrito posee



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco



propiedades antivirulencia; sin embargo, faltan estudios complementarios para poder desarrollar una terapia antibacteriana efectiva.

JUSTIFICACION

La corteza de *Amphypterygium adstringens* posee fitoquímicos con capacidad de reducir la virulencia bacteriana; no obstante, para desarrollar una terapia antivirulencia efectiva se requiere realizar más estudios. En particular, para la evaluación de su capacidad antipatogénica en modelos de infección animal, es necesario el aislamiento y caracterización de las moléculas bioactivas en cantidades suficientes para poder realizarlos. De tal manera, que las actividades desarrolladas en mi estancia se enfocaron al aislamiento y caracterización química de los principales metabolitos bioactivos reportados en la corteza.

OBJETIVOS:

General: Aislar y caracterizar químicamente metabolitos bioactivos de la corteza de *Amphypterygium adstringens*.

Específicos:

- Colecta de corteza de *Amphypterygium adstringens* en el municipio de Chiautla de Tapia. Puebla.
- Obtención de extractos orgánicos y separación de principales metabolitos bioactivos.
- Caracterización química por técnicas espectroscópicas y espectrométricas del ácido masticadienólico, ácido 3 alfa-hidroxi masticadienólico y ácidos anacárdicos.
- Conocer y aplicar técnicas para el manejo de animales de laboratorio.

METODOLOGÍA

Material vegetal

La corteza del tallo de cuachalalate se colectó en el municipio de Chiautla de Tapia, Puebla, en una propiedad privada y con permiso del dueño. Se colectaron alrededor de

3 kilos de corteza del tallo de diferentes árboles. Se tuvo cuidado de realizar pequeñas cortes para evitar daños mayores al árbol y garantizar su supervivencia. Se realizó el prensado de flor y fruto para la identificación taxonómica por el personal experto de la institución. La corteza se secó dos días a la intemperie como indica el método tradicional (Anexos Figura 1).

Aislamiento y purificación de metabolitos

Ochocientos gramos de corteza se extrajeron con hexano y se sometieron a un proceso de separación cromatográfica conforme a lo descrito por Castillo-Juárez *et al.* (2013) y González-Islas *et al.*, (2019) con modificaciones (Figura 1).

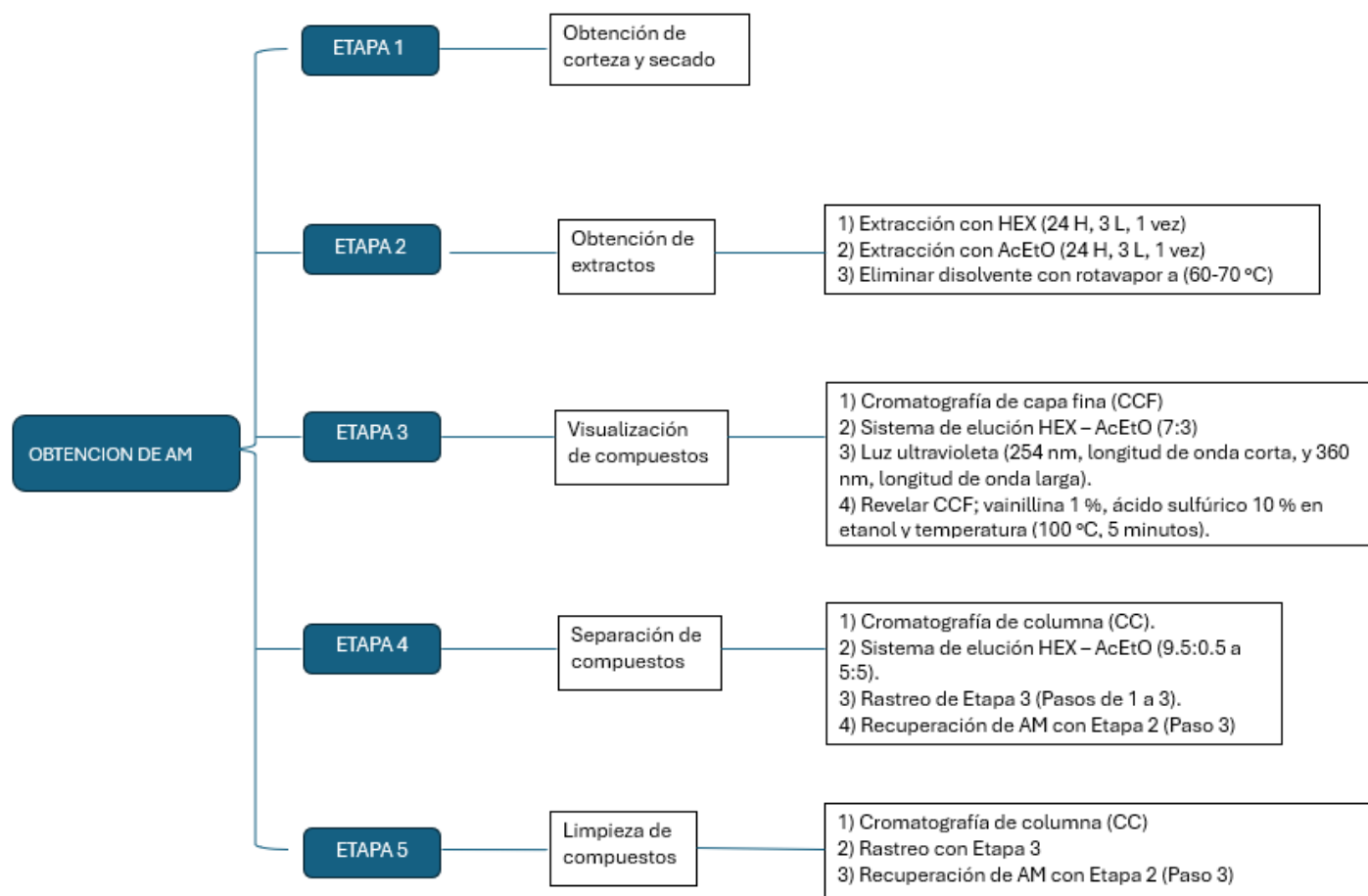


Figura 1. Secuencia del aislamiento y purificación de los compuestos.



Caracterización química

La caracterización química se realizó por resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN) en un equipo Bruker Avance III 400 MHz; sonda BBO 400S1 BBF-H-D-05. Se utilizó tetrametilsilano como referencia interna y cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente.

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se realizó en un Agilent 1200 Series Binary SL con columna Synergi 4 μm Polar-RP 80 Å 150 x 2.0 mm, acoplada a un detector de espectrometría de masas (CL/EM) (Bruker Esquire 6000 ESI; UV-Vis Arreglo de Diodos Waters 2996) en modo negativo.

RESULTADOS

Diez gramos del extracto de hexano se sometieron a un proceso de separación por cromatografía de columna (71 x 6 cm) empacada con 200 g de gel de sílice (sílica gel G-60 Merck, con tamaño de partícula de 0.063-0.200 mm, malla de 70-230 ASTM). El sistema de elución fue HE:AE con polaridad creciente (9.5:0.5 hasta 5:5). Todas las fracciones obtenidas de las columnas se monitorearon por CCF y juntaron de acuerdo con su similitud, finalmente se les eliminó el disolvente en rotavapor. De este proceso se obtuvieron cuatro compuestos, los cuales serán purificados y sometidos a los análisis espectroscópicos y espectrométricos correspondientes para su caracterización (Anexo Figura 2).

Los compuesto C2 y C3, se sometieron a un segundo procedimiento cromatográfico en una columna (17 x 4 cm) empacada con 200 g de gel de sílice (sílica gel G-60 Merck, con tamaño de partícula de 0.063-0.200 mm). El sistema de elución fue HE:AE con polaridad creciente (9:1 hasta 5:5). Todas las fracciones obtenidas de las columnas se monitorearon por CCF para observar la pureza del compuesto, finalmente se les eliminó el disolvente en rotavapor (Anexo Figura 3).

El compuesto C4, se sometió a cromatografía de columna (71 x 6 cm) empacada con 200 g de gel de sílice (sílica gel G-60 Merck, con tamaño de partícula de 0.063-0.200 mm) y conectada a vacío. El sistema de elución fue HE:AE (9.5:0.5 hasta 5:5). Se repitió la monitorización por CCF (Anexo Figura 4).

Compuesto 1: Los ácidos anacárdicos aislados presentaron una apariencia cerosa de color blanco amarillenta. El análisis de resonancia magnética nuclear (^1H -RMN, 400 MHz, CDCl_3) confirma que se trata de ácidos anacárdicos con las señales característica (δ 7.18 (t, 1H, $J = 7.9$ Hz, H-4), 6.73 (d, 1H $J = 8.2$ Hz, H-3), 6.63 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz, H-5), 5.31-5.13 (m, 2H, H-16', 17'), 1.28 – 1.03 (m, 36H, H-3'-H-14', H-19'-24'), 0.90 – 0.74 (m, H-25') ppm. La cadena lateral de las moléculas δ 1.28 – 1.03 integra hasta 25 carbonos.

Además, son principalmente saturada o monoinsaturada (m, 5.5 ppm) por lo que su apariencia física es cerosa.

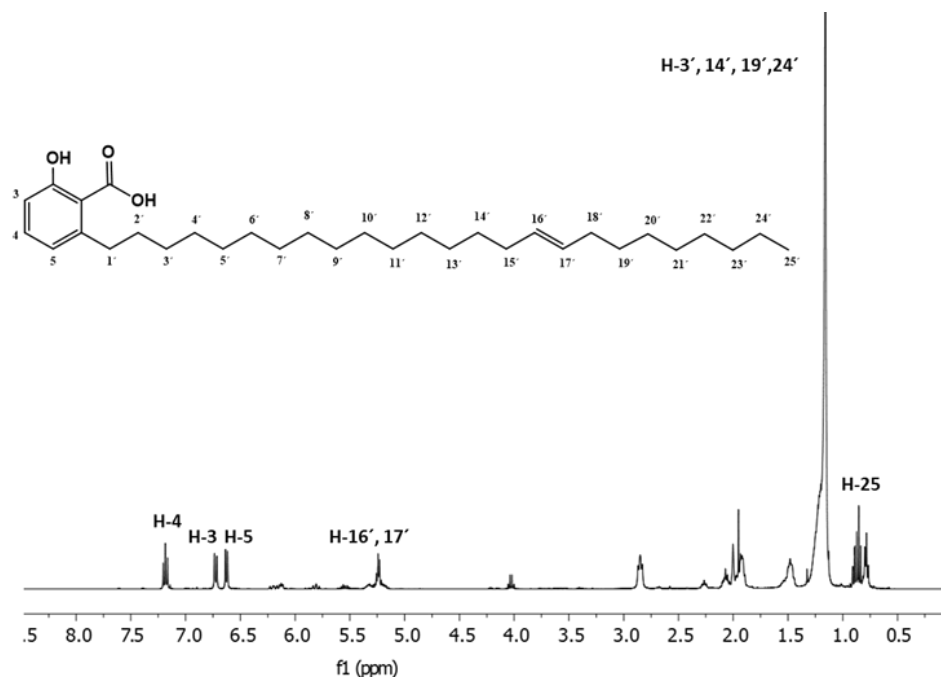


Figura 2. Espectros de resonancia magnética nuclear de H⁺ RMN (400 MHz, CDCl₃) del compuesto 1.

El análisis de cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un espectrómetro de masas (CL/EM) señaló que es una mezcla constituida por cinco ácidos anacárdicos. Tabla 1. Se identificó el 6-[15'(Z)-nonadecenil] salicílico (19:1, 44.1 %), 6-pentadecil salicílico (15:0, 19.8 %), 6-[10'(Z)-heptadecenil] salicílico (17:1, 12.4 %), 6-heptadecil salicílico (17:0, 3.8 %) y el 6-nonadecil salicílico (19:0, 3.8 %). La asignación de la posición de las insaturaciones se realizó con base a la literatura (Mata y col. 1991).

Tabla 1. Ácidos anacárdicos identificados en el “compuesto 1”

Ácidos anacárdicos	Clave	ESI-MS [M-H] ⁻ m/z	Formula molecular	Área (%)
6-[15'(Z)-nonadecenil] salicílico	19:1	401.4	C ₂₆ H ₄₈ O ₃	44.1
6-pentadecil salicílico	15:0	347.3	C ₂₂ H ₄₂ O ₃	19.8
6-[10'(Z)-heptadecenil] salicílico	17:1	373.4	C ₂₄ H ₄₄ O ₃	12.4
6-heptadecil salicílico	17:0	375.6	C ₂₄ H ₄₆ O ₃	3.8
6-nonadecil salicílico	19:0	403.2	C ₂₆ H ₅₀ O ₃	3.8

Compuestos 2 a 4. Se analizaron las fracciones obtenidas y se juntaron en función de su patrón de elución en CCF revelada con vainillina/ácido sulfúrico. Se obtuvieron dos compuestos con características físicas de polvos blancos. Mediante la comparación con muestras de referencias se pudo identificar correspondían a los ácidos masticadienólico y 3 α -hidroximasticadienólico (Figura 3). Lo anterior fue corroborado mediante las señales características en el análisis de ^1H NMR.

Ácido masticadienólico: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.28 (s, 1H), 6.12 (dd, $J = 9.3, 3.0$ Hz, 1H), 5.35 – 5.31 (m, 1H), 2.78 (td, $J = 14.5, 5.5$ Hz, 1H), 2.68 – 2.39 (m, 1H), 2.28 (dd, $J = 7.8, 4.1$ Hz, 1H), 1.98 – 1.92 (m, 1H), 1.94 (s, 1H) ppm.

Ácido 3 α -hidroximasticadienólico: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.25 (s, 1H), 6.08 (dd, $J = 10.6, 4.3$ Hz, 1H), 5.26 – 5.21 (m, 1H), 4.29 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H), 3.48 – 3.43 (m, 1H), 2.63 – 2.36 (m, 1H), 2.32 (dd, $J = 9.2, 6.6$ Hz, 1H), 2.17 – 2.15 (m, 1H), 1.90 (s, 1H) ppm.

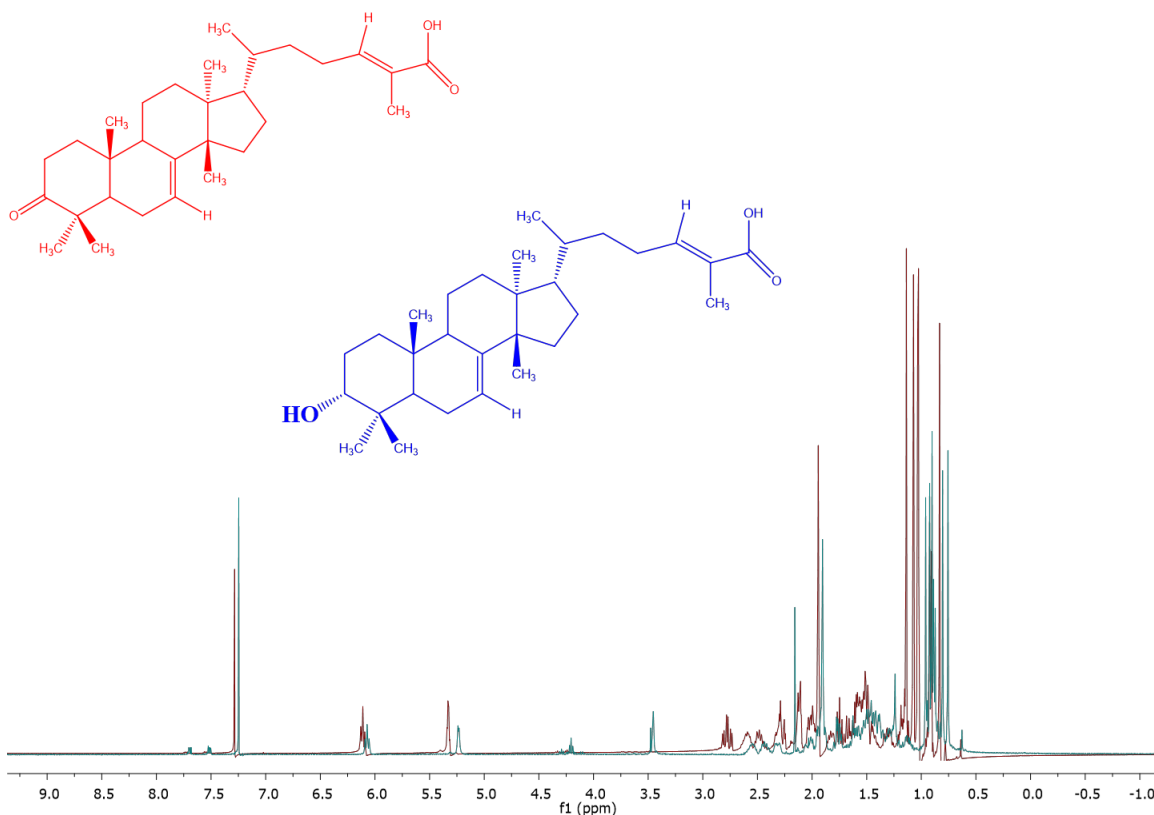


Figura 3. Espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) del ácido masticadienólico (rojo) y 3 α -hidroximasticadienólico (azul).



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco



DISCUSION

La especie medicinal *A. adstringens* se ha vuelto objeto de estudio, debido a que sus extractos poseen propiedades curativas, que se le atribuyen a algunas familias de metabolitos secundarios, tales como los ácidos anacárdicos y a los ácidos triterpénicos como el ácido masticadienónico y el 3 α -hidroximasticadienónico, entre otros.

Reyes y colaboradores (2024) en su método de cuantificación con HPTLC para ácidos anacárdicos y masticadienónicos, utilizó un método estadístico para el análisis de compuestos activos, verificando si entre sus variables podía existir una diferencia significativa en la cantidad de compuestos. Tomando en cuenta que no hubo gran cambio en dichos análisis podemos asegurar que los rendimientos obtenidos en nuestro método pueden ser similares a los que se obtuvieron en trabajos anteriores.

En el trabajo de Navarrete y Cols., (2006), el objetivo principal fue la extracción de triterpenos por medio de distintos métodos cromatográficos, dejándonos como conclusión la importancia del análisis de los materiales para el aseguramiento de calidad de las distintas formas de preparación del cuachalalate.

La selección de las fracciones se realizó con el método de González y Cols., (2018), por medio de monitoreo con CCF para verificar la similitud de los compuestos, con un sistema de elución de HEX:AcEtO. En el proceso que utilizó Alvarado y Cols., (2018), se puede observar de mejor manera el comportamiento no polar de los ácidos por las porciones que se utilizaron para la extracción y el rendimiento que se obtuvo, en este caso, con una mezcla de HEX:AcEtO en 7:3 se obtuvieron rendimientos mayores al 90%. Por lo cual nuestro sistema de elución tanto para el monitoreo y la extracción de dichos ácidos son la elección ideal para un mejor rendimiento a partir del extracto de HEX.

Gomez y Cols., (2015) en su trabajo purificó los ácidos masticadienónico, 3 α -hidroximasticadienónico, de los cuales, este último es el que se describe de mayor manera contando con la ayuda del espectro obtenido por NMR, Podemos hacer las comparaciones y diferenciación con nuestro espectro, teniendo en cuenta que la estructura de los últimos 2 compuestos mencionados comparten varios de sus grupos funcionales, por lo tanto, las señales en los espectros deben coincidir.

Una limitante que se tuvo en la experimentación fue que los extractos purificados se utilizaron para otros proyectos y esto nos acortó tiempo para hacer las cuantificaciones necesarias de nuestros compuestos y determinar rendimientos.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco



Manejo de ratones

Estuve encargado del manejo de roedores y mantenimiento de líneas de reproducción. También, he apoyado en el desarrollo de diversos protocolos experimentales. Además, del cuidado de los ratones, cada 5 días se les cambiaba el aserrín y estuve al cuidado de su alimentación todo basado en las indicaciones de mi asesor (Anexo Figura 5).

CONCLUSIONES

Como parte de mi servicio social en este trabajo, se obtuvieron los resultados planteados en los objetivos pese a las limitantes de tiempo y espacio sujetas a las reglas del Colegio de Postgraduados; así mismo, estos resultados sirvieron para que los alumnos de posgrado continuaran con la experimentación en ratones sobre las propiedades bioactivas de los compuestos del cuachalalate. También, los compuestos obtenidos se han utilizado como referencias en otras investigaciones del laboratorio como es en Reyes-García et al., 2024, en la cual se agradece mi asistencia técnica.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco



REFERENCIAS

- Castillo-Juárez I., García-Contreras R., Velázquez-Guadarrama N., Soto-Hernández M. y Martínez-Vázquez M. (2013). Anacardic acid from *Amphipterygium adstringens* inhibits quorum sensing-controlled virulence factors of *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives of Medical Research*. 44(7):488-94: ISSN 0188-4409. 10.1016/j.arcmed.2013.10.004
- Castillo-Juárez I., López-Jácome, L.E., Soberón-Chávez, G., Tomás, M., Lee, J., Castañeda-Tameza, P., Hernández-Bárragana, I.A., Cruz-Muñiz, M.Y., Maeda, T., K. Wood, T., García-Contreras, R. (2017). Exploiting quorum sensing inhibition for the control of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* biofilms. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 17(17): 1915-1927. DOI: 10.2174/1568026616666160930131737.
- Castillo-Juárez I. Maeda T., Mandujano-Tinoco E.A., Tomás M., Pérez-Eretza B., García-Contreras., Wood T., K, y García-Contreras R. (2015). Role of quorum sensing in bacterial infections. *World Journal of Clinical Cases*. 3(7):575-98: ISSN 2307-8960. doi: 10.12998/wjcc.v3.i7.575.
- Díaz-Núñez J.L., García-Contreras R. and Castillo-Juárez I. (2021). The new antibacterial properties of plants: Quo vadis studies of anti-virulence phytochemicals?. 12:1054-1063. *Frontiers in Microbiology-Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy*. doi.org/10.3389/fmicb.2021.667126. ISSN: 1664-302X.
- Gómez-Salgado M.R., Beltrán-Gómez J.A., Díaz-Núñez J.L., Alberto Rivera-Chávez J., García-Contreras R., Estrada-Velasco A.Y., Quezada H., Carlos Alberto Serrano-Bello C.A. and Castillo-Juárez I. (2024). Efficacy of a Mexican folk remedy containing cuachalalate (*Amphipterygium adstringens* (Schltdl.) Schiede ex Standl) for the treatment of burn wounds infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Ethnopharmacology*. 319 (117305): 1-10. Print ISSN: 03788741. Online ISSN: 18727573. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117305>.
- González-Islas V., Sánchez-Fernández R., Cortes-López H., Soto-Hernández M., Maceda-Rodríguez A. and Castillo-Juárez I. (2019). Analysis of the anti-virulence potential of two long chain phenol mixture. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 42(3):227:234. ISSN 0187-7380.
- López-Jácome E., Franco-Cendejas R., Quezada H., Morales-Espinosa R., Castillo-Juárez I., González-Pedrajo B., Fernández-Présas A.M., Tovar-García A., Angarita-Zapata V., Licona-Limón P., Martínez-Vázquez M., and García-Contreras



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco



- R. (2019). The race between drug introduction and appearance of microbial resistance. Current balance and alternative approaches. *Current Opinion in Pharmacology*. 25(48):48-56. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2019.04.016>.
- Mata y col. 1991. Long-chain phenols from the bark of *Amphipterygium adstringens*. *J Ethnopharmacol*. 34(2-3):147–154; Rivero-Cruz. 2011. Isolation of the new anacardic acid 6-[16'Z-nonadecenyl]-salicylic acid and evaluation of its antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Nat. Prod. Res*. 25(13):1282–1287).
- Monreal García, H. M., Eli Amanda, D. A., Medina Medrano, J.R., & Rene, T.R. (2013). ANTIBIÓTICOS Y LA RESISTENCIA BACTERIANA ACTUAL: UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.
- Reyes-García B., Castillo-Juárez I., Díaz-Nuñez J.L., Rivera-Chávez J.A., Jorge Gutiérrez., Salomé-Abarca L.F., García-Esteva A., Mercedes G. López., Nieto-Blancas J.J., Sotelo-Barrera M. (2024). Identification of bioactive compounds in *Amphipterygium adstringens* branch bark. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development*. (en prensa). ISSN: 2616-4809 y 2519-559X.
- Rios, J.L. & Recio, M.C. (2005). Medicinal Plants and Antimicrobial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 80-84. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025>
- Sotelo-Barrera, M., Cília-García, M., Luna-Cavazos, M., Díaz-Núñez, J.L., Romero-Manzanares, A., Soto-Hernández, R.M. & Castillo-Juárez, I. (2022). *Amphipterygium adstringens* (Schltdl.) Schiede ex Standl (Anacardiaceae): una planta endémica con propiedades farmacológicas relevantes. *Plantas*, 11 (13), 1766. MDPI AG. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.3390/plants11131766>.

ANEXOS



Figura 1. Zona de estudio y de colecta en el municipio de Chiautla de Tapia, Puebla. Se muestra el descortezamiento del tronco y el “secado al sol” como se recomienda popularmente. Del lado derecho se muestra el árbol de cuachalalate en época de lluvias.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

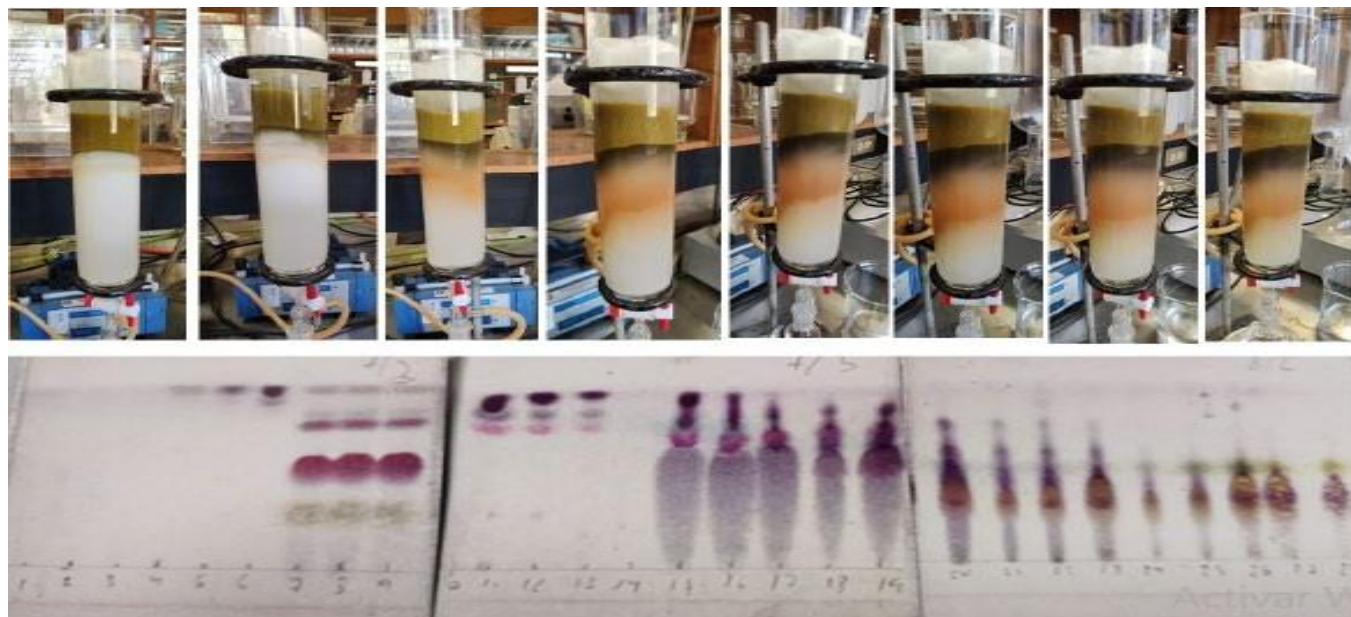


Figura 2. Imágenes representativas del proceso de separación y aislamiento de compuestos bioactivos de la corteza de *A. adstringens*. Imágenes superiores cromatografía en columna e inferior cromatografía en placa fina revelada con vainillina-ácido sulfúrico.



Figura 3. Imágenes de los compuestos C2 y C3 obtenidos después de someter el extracto de hexano en cromatografía en columna.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

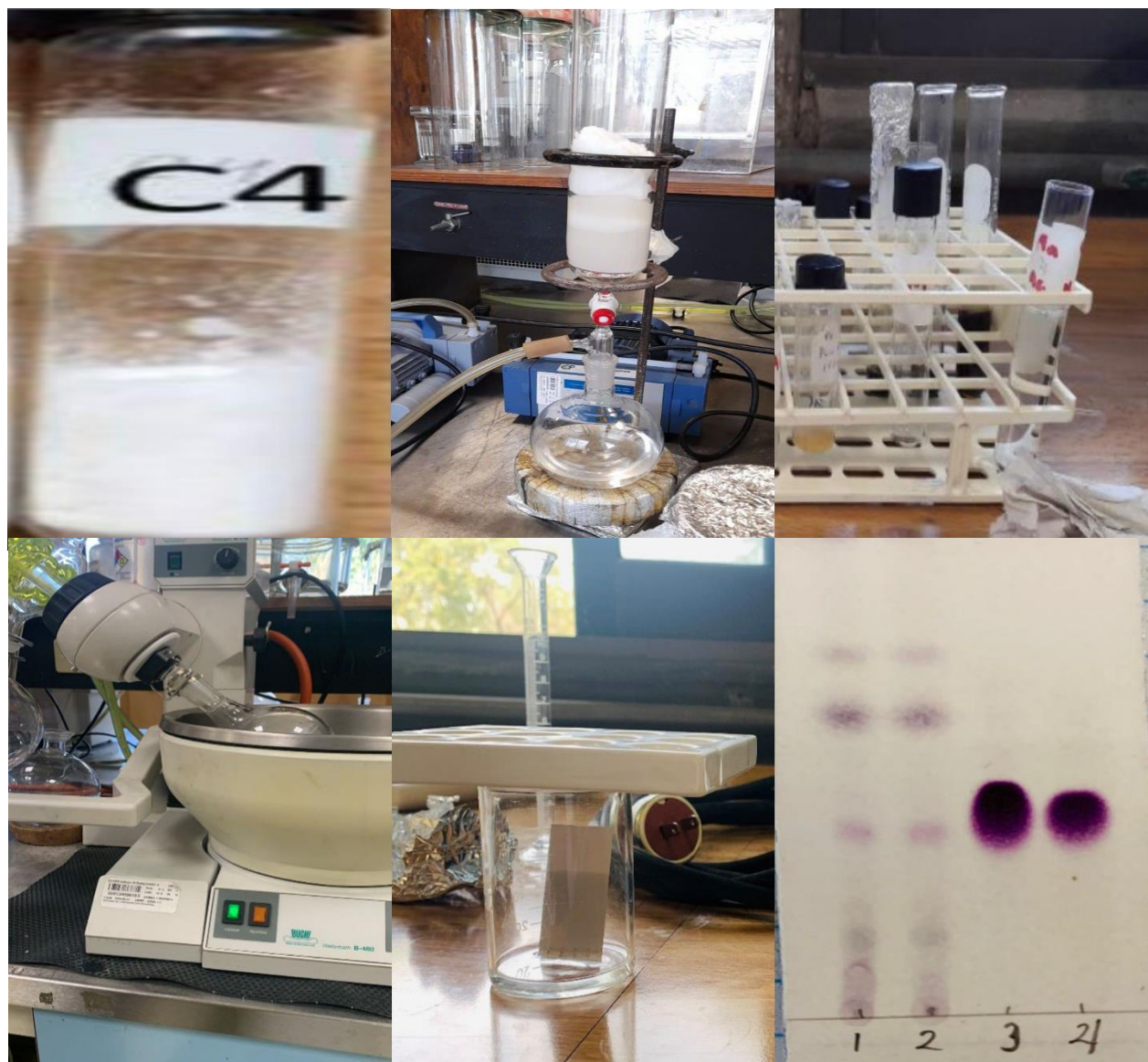


Figura 4. Compuesto C4 obtenido por cromatografía en columna del extracto de hexano

/A

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Umdad Xochimilco

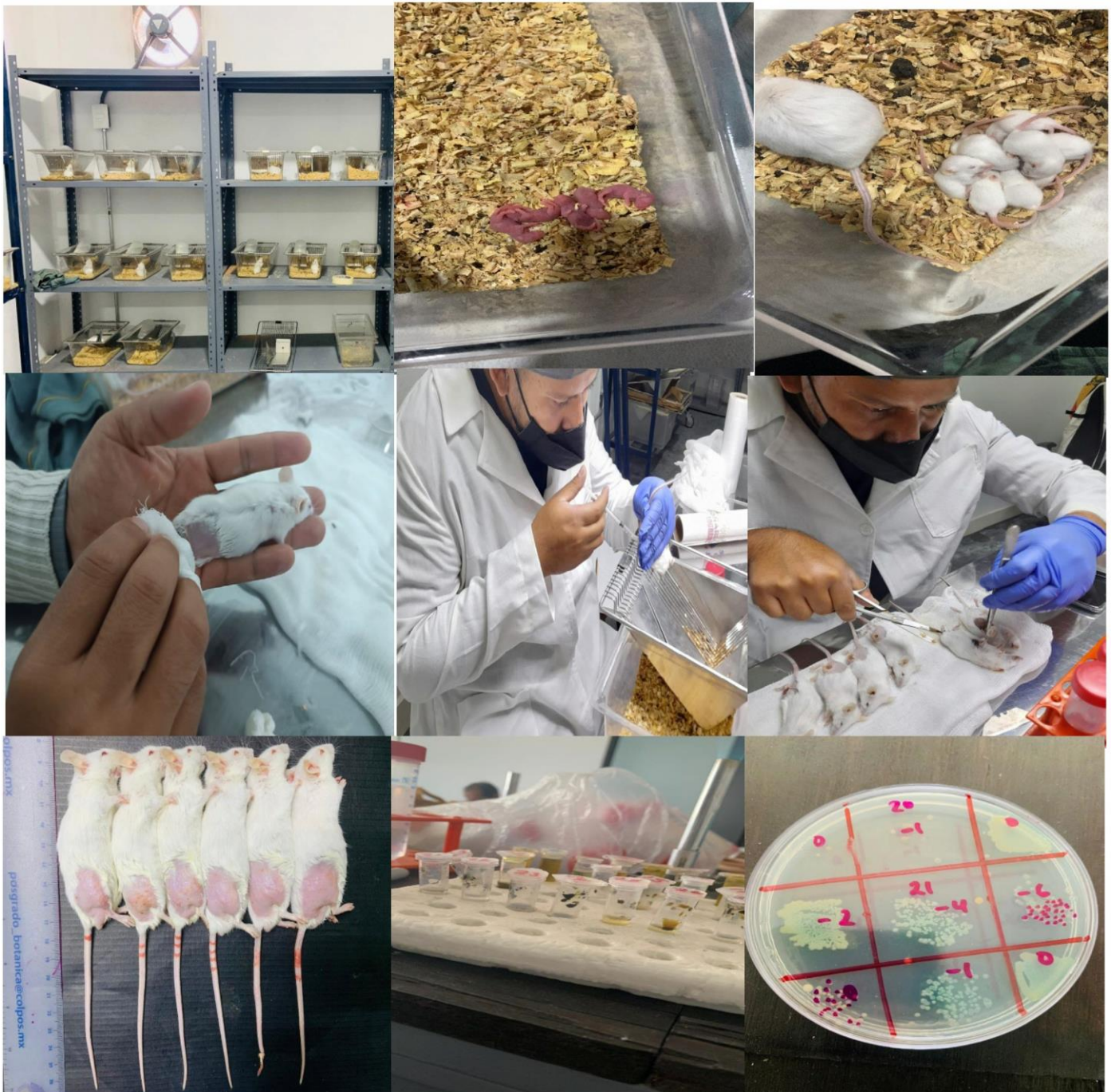


Figura 5. Imágenes obtenidas del mantenimiento, cuidado de los ratones y del apoyo a los diversos experimentos.