

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD
DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

**“Efecto de *Aloysia triphylla* sobre convulsiones inducidas
químicamente”.**

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

STEFANI MORALES CARRION

CODIRECTORAS:

Dra. Maribel Lucila Herrera Ruiz

Dra. Nayeli Monterrosas Brisson

CUERNAVACA, MORELOS

JUNIO, 2023

Agradecimientos

A mis codirectoras de tesis:

Dra. Maribel Lucila Herrera Ruiz, Investigadora del Laboratorio de Farmacología, CIBIS-IMSS.

Dra. Nayeli Monterrosas Brisson, Profesora-Investigadora de la Facultad de Ciencias Biológicas-UAEM.

Por su orientación, apoyo y paciencia durante el proceso de redacción de esta tesis, aprecio mucho su tiempo, dedicación y enseñanzas que me han permitido completar esta investigación.

A los miembros del sínodo evaluador:

Dr. Jesús Enrique Jiménez Ferrer, Profesor-Investigador de la Facultad de Ciencias Biológicas-UAEM y el Laboratorio de Farmacología, CIBIS-IMSS.

Dr. Manasés González Cortázar, Investigador del Laboratorio de Fitoquímica, CIBIS-IMSS.

Dra. Verónica Obregón Barboza, Profesora-Investigadora de la Facultad de Ciencias Biológicas y el Laboratorio de Control biológico, CEIB-UAEM.

Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa, Profesor-Investigador del Laboratorio de Biotecnología de plantas medicinales, CEIB-UAEM.

Por tomarse el tiempo de leer mi trabajo, por sus útiles comentarios y sugerencias.

A Miguel Carrión, mi abuelo, por su apoyo incondicional.

A Wilson, quien me ha acompañado, motivado y brindado todo su cariño durante el proceso de investigación y redacción de esta tesis.

Dedicatoria

A Lourdes Carrión Huerta, mi madre.

Te agradezco por siempre creer en mí, aun cuando ni yo misma lo hacía. Este logro es tanto tuyo como mío, anhelo que estas páginas sean un tributo a tu amor y sacrificio, esperando hacerte sentir orgullosa con este triunfo.

I. Índice general

	Página
1. Introducción	13
2. Antecedentes	15
2.1.Epilepsia	15
2.1.1. Clasificación	15
2.1.2. Etiología	16
2.1.3. Epidemiología	17
2.1.4. Fisiopatología	17
2.1.4.1.Fase de despolarización	20
2.1.4.2.Propagación	22
2.1.4.3.Fase de post-hiperpolarización	22
2.1.4.4.Neurotransmisión glicinérgica	23
2.1.4.5.Fisiopatología asociada a la genética	24
2.1.5. Diagnóstico	26
2.1.6. Tratamiento	26
2.1.6.1.Tratamiento farmacológico	26
2.1.6.1.1. Resistencia a fármacos anticonvulsivantes	27
2.1.6.2.Plantas medicinales en el tratamiento de la epilepsia	28
2.1.6.3.Tratamiento dietético	30
2.1.7. Modelos experimentales en animales	31
2.1.7.1.Fármacos utilizados para inducir convulsiones	32

2.1.7.1.1. Pentilentetrazol (PTZ)	32
2.1.7.1.2. Estricnina (EST)	32
2.1.7.1.3. Picrotoxina (PTX)	33
2.1.7.1.4. Diazepam (DZP)	34
2.2. <i>Aloysia triphylla</i>	35
2.2.1. Taxonomía	35
2.2.2. Descripción botánica	35
2.2.3. Distribución	36
2.2.4. Usos medicinales	37
2.2.5. Aceite esencial	39
2.2.5.1. Química y farmacología	39
2.2.5.2. Efectos adversos	40
3. Justificación	41
4. Pregunta de investigación	42
5. Hipótesis	42
6. Objetivos	43
6.1. Objetivo general	43
6.2. Objetivos particulares	43
7. Metodología	44
7.1. Colecta del material vegetal	44
7.2. Fitoquímica	45
7.2.1. Obtención de extractos	45
7.2.2. Obtención de fracciones de AtMet	45

7.2.2.1.Separación de la fracción número 22 de AtMet	46
7.2.3. Obtención de fracciones de AtHex	46
7.2.4. Caracterización química	46
7.2.4.1.Cromatografía de Gases-Masas	46
7.2.4.2.Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)	47
7.2.4.3.Cromatografía acoplada a Masas	47
7.3.Pruebas farmacológicas	48
7.3.1. Animales de experimentación	48
7.3.2. Reactivos y tratamientos evaluados	48
7.3.3. Convulsiones inducidas con Picrotoxina (PTX), Pentilentetrazol (PTZ) y Estricnina (EST)	49
7.3.4. Tratamientos evaluados	50
7.3.5. Análisis de datos	52
8. Resultados	52
8.1.Fitoquímica	52
8.1.1. Rendimiento de extracción	52
8.1.2. Fracciones obtenidas de AtMet	53
8.1.3. Fracciones obtenidas de AtHex	54
8.1.4. Análisis de cromatografía de Gases-Masas de AtHex	55
8.1.5. Análisis cromatográfico de AtMetF4-2 (F22)	57
8.2.Pruebas farmacológicas	58
8.2.1. Efecto de los extractos metanólico, hexánico y de acetato de etilo de <i>Aloysia triphylla</i> sobre convulsiones inducidas con los diferentes tóxicos	58

8.2.1.1.Convulsiones inducidas con pentilentetrazol (PTZ)	58
8.2.1.2.Convulsiones inducidas con estricnina (EST)	60
8.2.1.3.Convulsiones inducidas con Picrotoxina (PTX)	62
8.2.2. Efecto del extracto de acetato de etilo de <i>Aloysia triphylla</i> (AtAcEt) a 250 y 750 mg/kg sobre convulsiones inducidas con los diferentes tóxicos	64
8.2.2.1.Convulsiones inducidas con pentilentetrazol (PTZ)	64
8.2.2.2.Convulsiones inducidas con estricnina (EST)	66
8.2.2.3.Convulsiones inducidas con picrotoxina (PTX)	68
8.3.Porcentaje de sobrevida obtenido en pruebas farmacológicas de extractos de <i>Aloysia triphylla</i> .	70
8.4.Efecto de las fracciones de AtMet sobre convulsiones inducidas con EST	70
8.4.1. Efecto de las subfracciones de AtMetF4 sobre convulsiones inducidas con EST	72
8.5.Efecto de las fracciones de AtHex sobre convulsiones inducidas con PTZ	74
8.6.Porcentaje de sobrevida de fracciones y subfracciones obtenido en pruebas farmacológicas con PTZ y EST	76
8.7.Efecto de CGA sobre convulsiones inducidas con EST	77
9. Discusión	79
10. Conclusiones	82
Perspectivas	82
Literatura citada	83
Anexos	94
Anexo 1: Glosario	95
Anexo 2: Perfil cromatográfico de <i>Aloysia triphylla</i> (HPLC)	98

Anexo 3: Resultados de cromatografía de Gases-Masas	100
Anexo 4: Resultados de cromatografía acoplada a Masas	109

II. Índice de figuras

		Página
Figura 1	Mecanismos de canales de sodio (Na ⁺), potasio (K ⁺) dependientes de voltaje y bomba de sodio-potasio en la membrana plasmática.	18
Figura 2	Potencial de acción.	19
Figura 3	Foco epileptógeno en convulsión parcial y generalizada.	20
Figura 4	Potencial de acción durante una crisis epiléptica, desde el periodo pre-ictal, convulsiones tónicas, clónicas y periodo postictal.	21
Figura 5	Estructura química de Pentilentetrazol.	32
Figura 6	Estructura química de Estricnina.	33
Figura 7	Estructura química de Picrotoxina.	33
Figura 8	Estructura química de Diazepam.	34
Figura 9	<i>Aloysia triphylla</i> .	36
Figura 10	Distribución de <i>Aloysia triphylla</i> en México.	37
Figura 11	Esquema general de montaje de la prueba de convulsiones inducidas por químicos (PTZ, PTX y EST).	49
Figura 12	Efecto del extracto metanólico (AtMet), hexánico (AtHex) y de acetato de etilo (AtAcEt) de <i>A. triphylla</i> a una dosis de 500 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con PTZ.	59
Figura 13	Efecto del extracto metanólico (AtMet), hexánico (AtHex) y de acetato de etilo (AtAcEt) de <i>A. triphylla</i> a una dosis de 500 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con EST.	61
Figura 14	Efecto del extracto metanólico (AtMet), hexánico (AtHex) y de acetato de etilo (AtAcEt) de <i>A. triphylla</i> a una dosis de 500 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con PTX.	63
Figura 15	Efecto del extracto de acetato de etilo (AtAcEt) de <i>A. triphylla</i> a una dosis de 250 y 750 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con PTZ.	65

Figura 16	Efecto del extracto de acetato de etilo (AtAcEt) de <i>A. triphylla</i> a una dosis de 250 y 750 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con EST.	67
Figura 17	Efecto del extracto de acetato de etilo (AtAcEt) de <i>A. triphylla</i> a una dosis de 250 y 750 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con PTX.	69
Figura 18	Efecto de las fracciones del extracto metanólico de <i>A. triphylla</i> a una dosis de 100 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con EST.	71
Figura 19	Efecto de las subfracciones del extracto metanólico de <i>A. triphylla</i> a una dosis de 50 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con EST.	73
Figura 20	Efecto de las fracciones del extracto hexánico de <i>A. triphylla</i> a una dosis de 100 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con PTZ.	75
Figura 21	Efecto del ácido clorogénico (CGA) sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con EST.	78

ANEXOS

Figura 22	Perfil cromatográfico del extracto metanólico de <i>Aloysia triphylla</i> (AtMet); observado a 330 nm.	98
Figura 23	Perfil cromatográfico del extracto de acetato de etilo de <i>Aloysia triphylla</i> (AtAcEt); observado a 330 nm.	98
Figura 24	Perfil cromatográfico de AtMetF4-2 de <i>Aloysia triphylla</i> ; observado a 330 nm.	99

III. Índice de cuadros

		Página
Cuadro 1	Plantas medicinales que han sido evaluadas, en diferentes ensayos y modelos de epilepsia	29
Cuadro 2	Tratamientos evaluados, dosis y vías de administración.	50
Cuadro 3	Rendimiento obtenido durante el proceso de maceración y concentración, de los diferentes extractos de <i>A. triphylla</i> por cada 100 g de planta seca y molida.	52
Cuadro 4	Resumen del fraccionamiento químico del extracto metanólico (AtMet).	53
Cuadro 5	Resumen del fraccionamiento químico del extracto hexánico (AtHex).	54
Cuadro 6	Análisis químico por la técnica de Gases-Masas de la fracción AtHexF3, derivada del extracto AtHex.	56
Cuadro 7	Análisis químico por HPLC y cromatografía acoplada a Masas de AtMetF4-2, derivada del extracto AtMet.	57

IV. Abreviaturas

AMPA	α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico.
AtAcEt	Extracto de acetato de etilo de <i>Aloysia triphylla</i> .
AtHex	Extracto hexánico de <i>Aloysia triphylla</i> .
AtMet	Extracto metanólico de <i>Aloysia triphylla</i> .
C₄H₈O₂	Acetato de etilo.
C₆H₁₄	Hexano.
CH₂Cl₂	Diclorometano.
CH₃OH	Metanol.
DDP	Desplazamiento Despolarizante Paroxístico.
DZP	Diazepam.
EST	Estricnina.
GABA	Ácido Gama amino butírico
Gli	Glicina.
i.p.	Administración por vía intraperitoneal.
NMDA	N-metil-D-aspartato.
PTX	Picrotoxina.
PTZ	Pentilentetrazol.
v.o.	Administración por vía oral.

1. Introducción

La epilepsia es un trastorno crónico paroxismal que se caracteriza por la presencia de convulsiones, que pueden ser focales o generalizadas. Debido a que no todas las convulsiones son debidas a la epilepsia, es difícil definir y diagnosticar este trastorno neurológico, el cual se reconoce que es multifacético y alrededor de éste se presentan diferentes aspectos, desde la etiología, las manifestaciones clínicas, el esquema de tratamiento y el pronóstico. Uno de los principales objetivos en el tratamiento de esta enfermedad es evitar las convulsiones sin producir efectos adversos. Aunque la terapia farmacológica ha progresado considerablemente, aproximadamente el 30% de los pacientes aún experimentan la presencia recurrente de las convulsiones, esto está relacionado con resistencia a fármacos, lo que lleva eventualmente a una condición médica y socialmente discapacitante.

La búsqueda de nuevos tratamientos para esta condición es continua y los recursos que se utilizan en la investigación de síntesis química de nuevos productos a la evaluación química y farmacológica de las plantas medicinales son variables, lo que se considera que ha generado importantes aportaciones en la clínica de la epilepsia.

En México, la biodiversidad en la flora medicinal es extensa y se cuenta con un acervo cultural importante en este aspecto. Varias especies son utilizadas para tratar problemas médicos asociados al sistema nervioso central (SNC), entre ellos los “ataques”, una condición de filiación cultural que se reconoce está asociado a la presencia de convulsiones. Una planta mexicana ampliamente utilizada para tratar los nervios es el “cedrón” o *Aloysia triphylla*, de la cual se tienen reportes científicos que indican su capacidad ansiolítica a través de interactuar con el sistema GABAérgico; que cabe mencionar, es uno de los principales mecanismos fisiopatológicos más ampliamente descritos para la generación de convulsiones.

Basado en esta información, en el presente proyecto se realizó la evaluación anticonvulsivante del extracto metanólico del “cedrón” y de fracciones químicamente menos complejas que se obtuvieron de éste. Se utilizaron químicos que farmacológicamente generan convulsiones dependiendo de la dosis que se administre en modelos animales, como son el pentilentetrazol (PTZ) y picrotoxina (PTX), cuyo mecanismo de acción es inhibir la transmisión GABAérgica potenciando la sobreexcitabilidad que lleva a la generación de convulsiones; y la estriknina (EST), que es un estimulante del SNC que actúa sobre la transmisión de glicina (Gli).

2. Antecedentes

2.1. Epilepsia

La epilepsia es un padecimiento neuronal crónico que se destaca por la presencia de convulsiones causadas por irregularidades en la homeostasia del encéfalo. Se trata de suspensiones temporales de la función encefálica debidas a una actividad neuronal excesiva y descontrolada, consecuencia de un desequilibrio en la excitación e inhibición nerviosa (Fuertes de Gilbert Rivera *et al.*, 2006; Hall, 2016).

La presencia de convulsiones no necesariamente es un indicador de la existencia de epilepsia, ya que una crisis epiléptica puede tratarse de un evento aislado o agudo, es decir, no relacionado con el padecimiento, mientras que en la epilepsia, dichos eventos son crónicos y espontáneos (López-Meraz *et al.*, 2009). En un reporte se menciona que para el diagnóstico de epilepsia se requiere de al menos dos crisis epilépticas no provocadas y en un intervalo menor a 24 horas, así como la probabilidad de nuevas crisis similares dentro de los diez años siguientes (San-Juan y Rodríguez-Méndez, 2020).

2.1.1. Clasificación

Las crisis epilépticas se pueden catalogar en:

- **Crisis parciales o focales.** Son originadas en un pequeño grupo de neuronas denominado foco epileptógeno, frecuentemente poseen manifestaciones clínicas que denotan la función del área encefálica afectada (Hall, 2016). A su vez se dividen en:
 - **Crisis parciales simples:** no existe una alteración o pérdida de consciencia.
 - **Crisis parciales complejas:** están acompañadas de una alteración o pérdida de consciencia.

- **Crisis generalizadas.** Se extienden de forma rápida y simultánea a ambos hemisferios del encéfalo y pueden ser:
 - **Convulsivas:** presentan movimientos tónicos y/o clónicos.
 - **No convulsivas:** sin el tipo de movimientos mencionados en el punto anterior, dentro de estas se encuentran las denominadas crisis de ausencia (Kandel *et al.*, 2001).

2.1.2. Etiología

De acuerdo con Shorvon (2011), la etiología de la epilepsia se divide en cuatro categorías:

- **Epilepsia idiopática.** Tiene un origen principalmente genético, ya que no hay irregularidades neuroanatómicas o alguna neuropatología de gravedad.
- **Epilepsia sintomática.** Puede ser adquirida o heredada, se presentan rasgos clínicos. Está relacionada con alteraciones neuroanatómicas y patologías graves, se incluyen los trastornos congénitos asociados a cambios cerebrales.
- **Epilepsia provocada.** Es ocasionada por factores ambientales o sistémicos, no presenta cambios neuroanatómicos o neuropatológicos importantes.
- **Epilepsia criptogénica.** Tiene una causa desconocida, representa menos del 40% de casos de epilepsia en adultos.

Existen casos en los que categorizar la epilepsia que se presenta es complicado, actualmente se han alcanzado avances en cuanto al entendimiento de su mecanismo y sus causas genéticas, esto gracias al desarrollo de estudios de bioquímica clínica y molecular, de neuroimagen, así como de genética molecular (Shorvon, 2011).

La causa más frecuente de la epilepsia presente en personas mayores de 60 años son las enfermedades cerebrovasculares, ya que se relaciona con aproximadamente el 50% de la población de adultos mayores (Lara Luján *et al.*, 2017).

Se considera que la epilepsia presente durante la infancia tardía y adolescencia es de tipo idiopática o debida a un traumatismo encefálico; en adultos de 18 a 50 años generalmente se debe a traumatismos o tumores; en adultos mayores de 50 años es atribuida a enfermedades cerebrovasculares y neurodegenerativas (Fuertes de Gilbert Rivera *et al.*, 2006).

2.1.3. Epidemiología

De acuerdo con los datos de la Organización Mundial de la Salud, se estima que existen cincuenta millones de personas afectadas por este padecimiento en el mundo, de las cuales el 80% pertenecen a países de ingresos bajos a medios (Singh y Sander, 2020). En México, alrededor de diez a veinte personas por cada mil padecen epilepsia, representando el 1.08 a 2% de la población total (Valdés-Galván *et al.*, 2019).

La epilepsia afecta a aproximadamente 0.5 a 1% de la población mundial, principalmente durante la infancia y la vejez, de hecho, se trata del tercer síndrome más frecuente en personas mayores de 60 años (Fuertes de Gilbert Rivera *et al.*, 2006).

2.1.4. Fisiopatología

En condiciones normales las señales eléctricas viajan a lo largo del axón para llevar a cabo una comunicación neuronal, alterando la polaridad de la membrana y generando una diferencia de potencial de acción entre el interior y el exterior de la célula neural (Figura 1), provocando una entrada de calcio en la célula, lo cual genera la liberación de neurotransmisores. Los iones de sodio

y calcio están encargados de la despolarización neuronal, mientras que el potasio y cloro, de la hiperpolarización (Torres Zambrano *et al.*, 2011).

La apertura de canales de calcio, lleva a la despolarización de la membrana y los neurotransmisores son liberados en la hendidura sináptica, uniéndose a receptores específicos de la membrana postsináptica, de forma que el impulso continúe siendo transmitido de neurona a neurona. La acción del glutamato (Glu) al actuar sobre sus receptores AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico) y NMDA (N-metil-D-aspartato), es provocar la despolarización de la membrana, debido a que permiten el influjo de Na^+ y Ca^{2+} , principalmente. Mientras que, la activación de los receptores GABA de tipo ionotrópicos como el GABA_A , lleva a la permeabilidad del ion cloruro (Cl^-) y con el flujo de su carga negativa inhibe a las células postsinápticas, provocando una hiperpolarización (Figura 2) (Purves *et al.*, 2004).

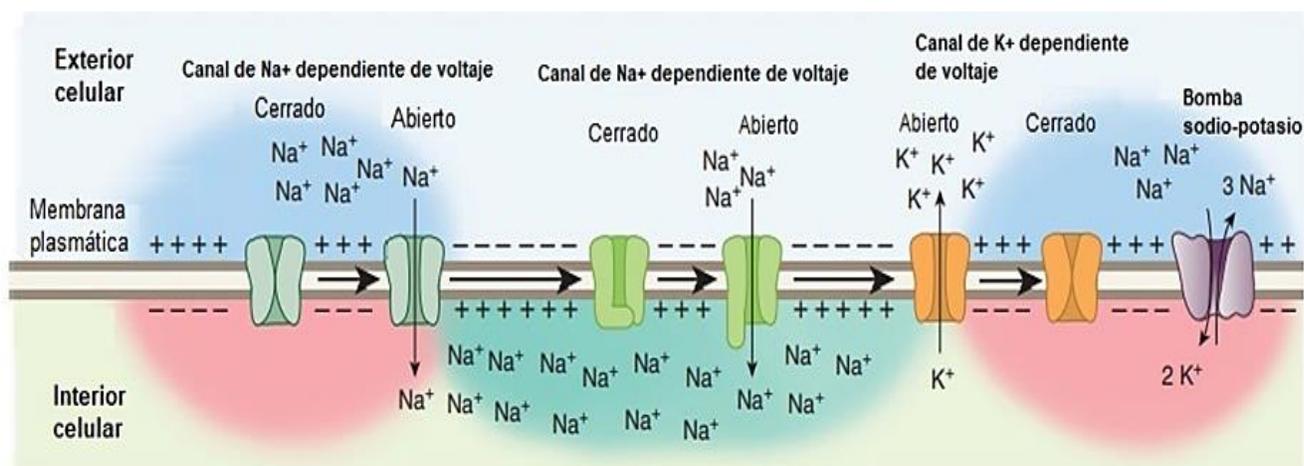


Figura 1: Mecanismos de canales de sodio (Na^+), potasio (K^+) dependientes de voltaje y bomba de sodio-potasio en la membrana plasmática. Modificado de:

<https://www.pharmacy180.com/article/cell-membrane-potential-3544/>

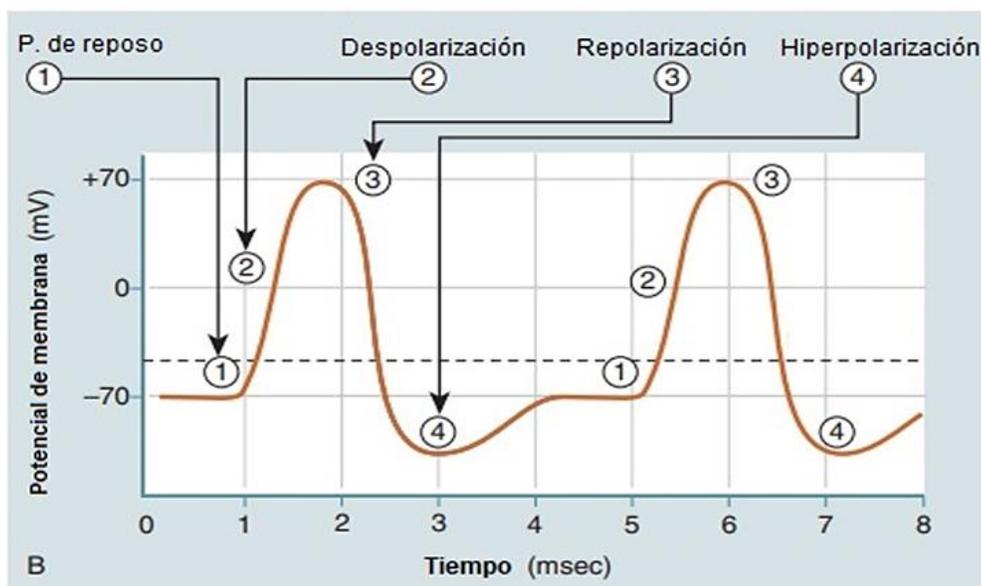


Figura 2: Potencial de acción. Modificado de: <https://www.pharmacy180.com/article/cell-membrane-potential-3544/>

Sin embargo, durante el desarrollo de las crisis epilépticas existe una anomalía entre la excitación y la inhibición mediadas por el sistema glutamatérgico y GABAérgico, respectivamente. Estas crisis resultan directa o indirectamente de un desequilibrio entre la excitabilidad y la inhibición neuronal, ya sea en neuronas únicas o en un grupo de éstas (Kandel *et al.*, 2001) y son originadas en un foco epileptógeno, entendido como una región cerebral distinguida por una actividad neuronal intensa, siendo la fuente principal de las descargas epilépticas (Figura 3). Este puede ser focal; bilateral, ubicando un foco en cada hemisferio cerebral; multifocal, existiendo más de tres focos epileptógenos, o difusos (López-Meraz *et al.*, 2009; Torres Zambrano *et al.*, 2011).

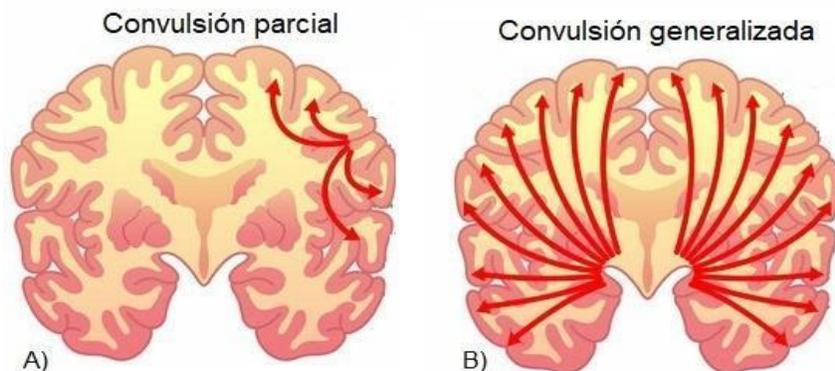


Figura 3: A) Foco epileptógeno en una convulsión parcial. B) Focos epileptógenos en una convulsión generalizada, ambos hemisferios son afectados. Modificado de: <https://www.health.harvard.edu/diseases-and-conditions/seizure-overview-a-to-z>

Los diferentes tipos de epilepsias se diferencian por presentar cambios paroxísticos de despolarización, también llamado Desplazamiento Despolarizante Paroxístico (DDP), que se trata de una despolarización repentina intensa y de larga duración que posteriormente desencadena una descarga de potenciales de acción. El inicio de esta descarga es atribuida a la activación de los canales de sodio, que están asociados a receptores glutamatérgicos AMPA, además de su propagación y despolarización mantenida, ya que existe una entrada rápida de sodio a la célula (Armijo *et al.*, 2000; Kandel *et al.*, 2001).

2.1.4.1 Fase De Despolarización.

Durante esta fase se presenta una activación masiva y simultánea de receptores ionotrópicos mediados por el glutamato, principalmente de tipo NMDA, cuya activación provoca una despolarización de la membrana con la entrada de calcio y sodio a la neurona. Provocando la presencia del potencial de acción, bajo condiciones normales (Kandel, *et al.*, 2001; Hall, 2016).

Una despolarización mantenida en la membrana pertenece a la fase tónica de una crisis convulsiva, mientras que una despolarización rítmica indica la fase clónica (Figura 4) (Barakat *et al.*, 2000).

Algunos factores que pueden influir en la facilitación de la excitabilidad de las neuronas pueden ser: la generación de descargas en ráfaga, pues se trata de un mecanismo de amplificación de las señales eléctricas y como resultado, las neuronas forman múltiples impulsos en respuesta a un estímulo y tienden a liberar más neurotransmisores, estas descargas pueden producir una despolarización intensa de espigas en otras neuronas (López-Meraz *et al.*, 2009).

Otro factor es el desequilibrio en los mecanismos de inhibición sináptica, como lo es el bloqueo de la transmisión GABAérgica, lo que resulta en un incremento en la excitabilidad, provocando con ello el desarrollo de la epileptogénesis (Armijo *et al.*, 2000). La glía contribuye a la homeostasis de potasio y a la captación de neurotransmisores, puesto que el aumento de potasio extracelular debido a la actividad eléctrica despolariza a las neuronas (Kandel *et al.*, 2001).

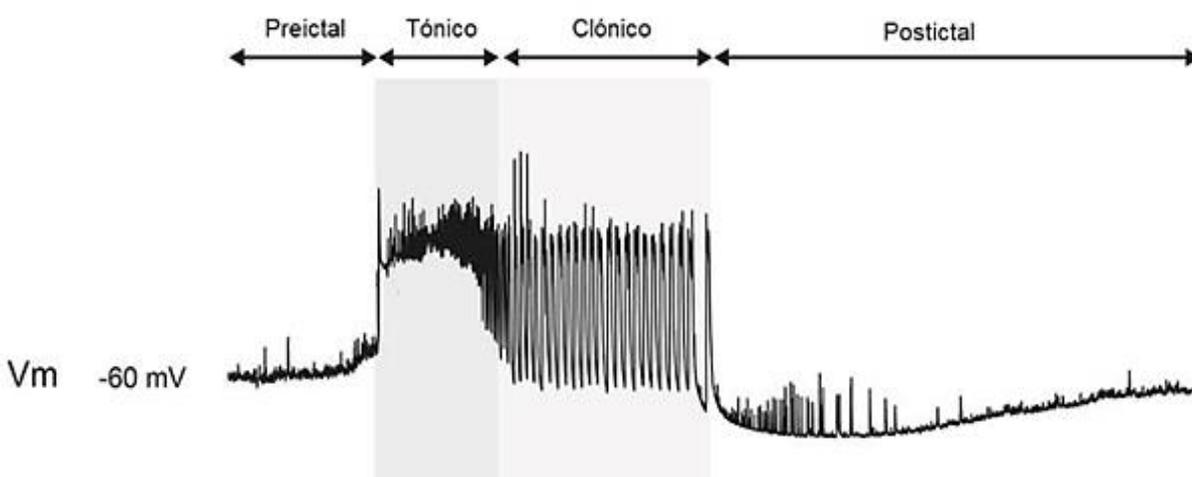


Figura 4: Potencial de acción durante una crisis epiléptica, desde el periodo preictal, convulsiones tónicas, clónicas y periodo postictal. Modificado de:

https://www.frontiersin.org/files/Articles/160768/fncel-09-00419-HTML/image_m/fncel-09-00419-g001.jpg

2.1.4.2. Propagación

De acuerdo con Hall (2016), si la actividad del foco epileptógeno tiene la suficiente intensidad, esta comienza a propagarse a otras áreas cerebrales siguiendo las mismas vías de actividad neuronal normal, consiguiendo afectar a zonas del mismo hemisferio o al hemisferio contralateral. En caso de afectar a ambos hemisferios se habla de una crisis secundariamente generalizada.

Durante la propagación de la actividad epiléptica puede presentarse pérdida de la consciencia, además de un avance progresivo de contracciones musculares en el lado opuesto a la ubicación del foco epileptógeno, generalmente comenzando desde la cabeza hacia las extremidades inferiores, a estas manifestaciones se les conoce como “marcha jacksoniana” (Hall, 2016).

2.1.4.3. Fase De Post-hiperpolarización

El factor principal que interrumpe las convulsiones es la inhibición estimulada por neuronas inhibitorias que se activan durante el inicio de la crisis epiléptica (Hall, 2016), la cual desencadena una post-hiperpolarización que limita la duración del DDP, haciendo que su desaparición sea gradual. Este mecanismo depende de la inhibición mediada por GABA, a través de la activación de los canales de cloro de los receptores de GABA_A, así como de los canales de potasio asociados a GABA_B (Armijo *et al.*, 2000).

Sin embargo, durante una crisis epiléptica el aumento inicial de GABA extracelular conduce a una carencia de sensibilidad de los receptores GABA_A, afectando el influjo de cloro en las neuronas postsinápticas (Torres Zambrano *et al.*, 2011). Así mismo, mecanismos compensatorios son activados para satisfacer las demandas de oxígeno y glucosa en las células

hiperexcitadas, existiendo la posibilidad de desencadenar una hiperglucemia y si la crisis se prolonga más de treinta minutos, estos mecanismos comienzan a fracasar por el desajuste en la oferta-demanda metabólica y pueden provocar un daño cerebral (Barakat *et al.*, 2000).

2.1.4.4. Neurotransmisión glicinérgica

La glicina (Gli), el aminoácido estructuralmente más simple, actúa a través de receptores ionotrópicos y sirve como un importante y ampliamente distribuido neurotransmisor que se expresa de manera prominente en el tallo cerebral, médula espinal y retina de adultos (Aprison y Werman, 1965). La biosíntesis de esta molécula como neurotransmisor está mediada por la serina hidroximetil-transferasa, que usa fosfato de piridoxal y tetrahidrofolato como cofactores. En SNC, la Gli también es sintetizada por la enzima sintasa de glicina (GCS), que cataliza la reacción reversible entre el dióxido de carbono, el ión amonio, N5- N10-metileno tetrahidrofolato NADH y un protón para producir este aminoácido (Daly y Aprison, 1974).

La acción de la glicina está mediada por un receptor asociado a un canal de cloruro y que es sensible a estriknina (GlyR), que pertenece a la superfamilia de canales iónicos activados por ligando, compuestos de 5 subunidades proteicas que forman pentámeros homoméricos o heteroméricos que se ensamblan alrededor de un poro conductor central (Lynch, 2004). Los GlyR están anclados postsinápticamente por gefirina, que se une a la subunidad del receptor β y a la tubulina, lo que da como resultado un “cluster” de receptores.

Durante la transmisión glicinérgica se requiere de transportadores específicos de alta afinidad GlyT1 y GlyT2, para la recaptación de Gli desde la hendidura sináptica hacia el interior celular. Los transportadores de glicina (GlyTs) son transportadores de neurotransmisores dependientes de Na^+/Cl^- , responsables de la captación de l-glicina en el sistema nervioso central. Los GlyT son

miembros de la familia de transportadores de solutos 6 (SLC6) y comprenden el transportador de glicina tipo 1 (SLC6A9; GlyT1) y el transportador de glicina tipo 2 (SLC6A5; Glyt2). GlyT1 y GlyT2 se expresan tanto en astrocitos como en neuronas, pero su patrón de expresión en el tejido cerebral está principalmente relacionado con la neurotransmisión (Eulenburg y Gomeza, 2010). Además de la transmisión glicinérgica, GlyT1 puede modular la neurotransmisión glutamatérgica a través de los receptores NMDA, lo que respalda su papel en la función cerebral y en diversas enfermedades.

GlyT2 se expresa notablemente en el tronco encefálico, la médula espinal y el cerebelo, donde es responsable de la captación de glicina en las terminales glicinérgicas y GABAérgicas. GlyT1 es abundante en la neocorteza, el tálamo y el hipocampo, donde se expresa en los astrocitos y participa en la neurotransmisión glutamatérgica. En consecuencia, la inhibición de los transportadores GlyT1 puede modular la neurotransmisión glutamatérgica a través de los receptores NMDA, lo que sugiere una estrategia terapéutica alternativa para trastornos neurodegenerativos que incluyen la epilepsia (Marques *et al.*, 2020).

Además, la Gli modula la actividad neuroexcitatoria del receptor N-metil-d-aspartato (NMDA) a través de sitios de unión de glicina insensibles a la estricnina ubicados en el receptor NMDA.

2.1.4.5. Fisiopatología Asociada a la Genética

Ciertos tipos de epilepsia, llamadas “idiopáticas” se han relacionado a canalopatías gracias a mutaciones que alteran la estructura y función de los canales dependientes de voltaje o a los canales asociados a receptores de neurotransmisores. Se le denomina “gen de epilepsia”, se expresa en el cerebro y, en caso de presentar alguna alteración, provoca una predisposición a descargas paroxísticas o a diferentes patrones de crisis epilépticas.

Son numerosos los canales que son codificados por algún gen que presente alguna variante transcripcional. Por ejemplo, la epilepsia de tipo benigna neonatal es provocada por una mutación en el gen *KNCQ2*, que afecta a un canal de potasio dependiente de voltaje que participa en la repolarización de la membrana (Armijo *et al.*, 2000).

Un defecto en los canales de sodio puede inducir una epilepsia generalizada con convulsiones febriles, esto debido a dos mutaciones en los cromosomas 2 y 19, que retardan la inactivación del canal de sodio e impulsan a una hiperexcitabilidad neuronal (Purves, 2004).

2.1.5. Diagnóstico

Existen diferentes estudios para precisar la existencia de este desorden, además de la presencia de dos convulsiones no provocadas en menos de 24 horas, se utilizan estudios de neuroimagen como la resonancia magnética, la tomografía por emisión de fotón o la tomografía por emisión de positrones. También se utilizan algunas técnicas neurofisiológicas, como la electroencefalografía, la estimulación magnética transcraneal y la magneto-encefalografía (San-Juan y Rodríguez-Méndez, 2020). Algunas de las manifestaciones clínicas reflejan la función del área encefálica afectada, dependiendo de la ubicación del foco epileptógeno.

Las crisis tónico-clónicas, antes denominadas “gran mal”, se caracterizan por presentar una pérdida repentina de la consciencia y contracciones musculares tónicas y espasmódicas alternas, como: mordedura de lengua; dificultades para respirar, en ocasiones llegando a una cianosis; y micción y/o defecaciones involuntarias. Suelen durar desde unos pocos segundos hasta tres a cuatro minutos.

Las crisis de ausencia, antes conocidas como “pequeño mal”, se identifican por un descenso de la consciencia de tres a treinta segundos y se observan contracciones musculares, en su mayoría de los músculos faciales, tales como guiños involuntarios (Hall, 2016).

2.1.6. Tratamiento

2.1.6.1. Tratamiento Farmacológico

La mayor parte de los fármacos anticonvulsivos obstruyen el inicio o extensión de las convulsiones, algunos bloqueando los canales de sodio dependientes de voltaje como la carbamacepina (Carpin® o Tegretol®) y fenitoína (Epamin®); otros provocan una alteración en las corrientes de calcio, como la etosuximida (Zarotin® o Fluozoid®); los fenobarbitales

(Alepsal®) y benzodiazepinas (Xanax®, Rivotril®), que provocan un aumento en la actividad del sistema GABAérgico. El perampanel (Fycompa®) ayuda a inhibir los receptores de glutamato, ya que es el neurotransmisor excitador más frecuente; además, existen fármacos con múltiples mecanismos de acción, como el valproato y topiramato (Hall, 2016).

La eficacia de los anticonvulsivos depende del tipo de crisis epiléptica de la que se trate (Kandel *et al.*, 2001). La elección del fármaco a utilizar depende del tipo de epilepsia que se presente, así como la edad del paciente, sin embargo, es recomendable corregir la causa subyacente de las convulsiones.

El uso de fármacos busca obtener un control absoluto de las crisis epilépticas y asegurar una buena calidad de vida del paciente, sin embargo, muchos de estos medicamentos provocan efectos adversos, tales como náuseas, somnolencia, insomnio, ataxia, diplopía, temblores y en algunos casos, osteoporosis (Fuertes de Gilbert Rivera, 2006).

Además, debido a que del 50 al 75% de las personas con epilepsia que pertenecen a países con ingresos bajos o medios no disponen de un tratamiento, es importante buscar reducir la mortalidad en estos países mejorando la atención médica, así como lograr un mayor acceso al tratamiento con costos más accesibles y que reduzcan los efectos secundarios asociados a los fármacos que se emplean actualmente (Singh y Sander, 2020).

2.1.6.1.1. Resistencia a fármacos anticonvulsivantes

Los fármacos anticonvulsivantes son la primera opción de tratamiento para la mayor parte de personas con epilepsia, no obstante, se estima que en el 30% de pacientes no se logra controlar las crisis epilépticas aún cuando son administrados múltiples fármacos simultáneamente, en este caso se presenta una epilepsia refractaria médicamente o también denominada intratable (Hakami,

2021). Esta farmacorresistencia hace referencia a la pérdida de eficacia terapéutica gracias a alteraciones en la estructura y/o función de sus blancos, por esta razón, es importante integrar distintos blancos terapéuticos, principalmente en los canales de sodio dependientes de voltaje y en los receptores de GABA_A, ya que dicho receptor es el principal objetivo para diversos anticonvulsivantes. Además, estudios realizados en animales muestran que el problema está asociado con la alteración de la expresión de las subunidades del receptor GABA_A, lo que elimina la eficacia de las benzodiazepinas y barbitúricos (Fonseca-Barriendos *et al.*, 2022).

Se ha comenzado una vasta investigación para generar mejores fármacos para el tratamiento de la epilepsia y ciertos medicamentos de segunda generación mostraron ventajas en cuanto a su tolerabilidad, sin embargo, no se ha demostrado que sean más eficaces que los de primera generación; indicando la necesidad de encontrar estrategias nuevas en el desarrollo de fármacos anticonvulsivantes (Hakami, 2021).

2.1.6.2. Plantas medicinales en el tratamiento de la epilepsia

Se ha demostrado que una gran parte de las plantas medicinales son potenciales tratamientos contra la epilepsia, sin embargo, en su mayoría es únicamente de forma tradicional tanto por sus efectos sedantes como antiepilépticos. Sin embargo, aún se requieren evidencias consistentes de la eficiencia de estas plantas, es por esta razón que se necesita realizar más informes experimentales controlados acerca de estos usos curativos (Liu *et al.*, 2017; Manchishi, 2018).

En la literatura existen diferentes reportes en los que se mencionan plantas que pueden ser útiles en el tratamiento de la epilepsia. En el cuadro 1 se presentan algunos ejemplos de éstas.

Cuadro 1. Plantas medicinales que han sido evaluadas en diferentes ensayos y modelos de epilepsia.

ESPECIE	PARTE UTILIZADA	MODELO EVALUADO	REFERENCIA
<i>Passiflora incarnata</i> L.	Raíces y flores	<p>Redujo significativamente la puntuación de gravedad de las convulsiones, presentando efectos similares al diazepam.</p> <p>Extracto hidro-alcohólico en modelo <i>in vivo</i> (ratones y ratas), en colvusiones inducidas por pentilentetrazol por vías intraperitoneal e intracerebroventricular.</p>	<p>Miroddi <i>et al.</i>, 2013</p> <p>Manchishi <i>et al.</i>, 2018</p>
<i>Viscum album</i>	Hojas	Aumentó el tiempo de latencia en un modelo de convulsiones inducidas por pentilentetrazol, en ratones albinos suizos y ratas albinas Wister.	<p>Kienle y Kiene, 2010</p> <p>Manchishi <i>et al.</i>, 2018</p>
<i>Allium sativum</i>	Bulbos	Extracto alcohólico en convulsiones inducidas por leptazol (pentilentetrazol) en ratones.	Sharma <i>et al.</i> , 2013
<i>Artemisia dracunculus</i>	Toda la planta	Aceite esencial en convulsiones inducidas por pentilentetrazol y estimulación por electroshock en ratones.	Sayyah <i>et al.</i> , 2004
<i>Bacopa monnieri</i>	Hojas	Extracto polihierbal en convulsiones inducidas por estimulación por electroshock en ratas albinas.	Balamurugan <i>et al.</i> , 2009
<i>Curcuma longa</i>	Raíces		

<i>Cannabis spp.</i>	Hojas	Mejoró la actividad anticonvulsiva de la etosuximida, fenobarbital y el valproato en un modelo de convulsiones clónicas inducidas por pentilentetrazol en ratones.	Oyemitan <i>et al.</i> , 2017 Manchishi <i>et al.</i> , 2018
<i>Mussaenda philippica</i>	Hojas	El extracto hidroalcohólico potenció el efecto anticonvulsivo de otros fármacos en un modelo de convulsiones inducidas por estimulación por electroshock, picrotoxina, pentilentetrazol y estricnina en ratones albinos y ratas Wistar.	Kar <i>et al.</i> , 2014 Manchishi <i>et al.</i> , 2018

2.1.6.3. Tratamiento dietético

Los fármacos anticonvulsivantes alivian las convulsiones en la mayoría de los casos reportados, sin embargo, cerca de una tercera parte de estos pacientes pueden presentar una epilepsia refractaria, es decir, médicamente intratable. En aquellos casos en que existe farmacorresistencia o un fracaso en la eficacia de estos medicamentos, es posible optar por una cirugía en la que es extirpado el foco epileptógeno; así como terapia de neuroestimulación y terapia dietética como la dieta cetogénica (Won *et al.*, 2014; Ruiz Herrero *et al.*, 2021).

Las terapias basadas en las dietas cetogénicas, consisten en sostener una alimentación con un alto porcentaje de grasas y baja en carbohidratos, son diseñadas para simular los efectos bioquímicos del ayuno y al contar con lípidos como fuente principal de energía, se induce un estado de cetosis (Rebollo *et al.*, 2020). Estas dietas son clasificadas como: dieta cetogénica clásica, cetogénica con triglicéridos de cadena media, cetogénica Atkins modificada y cetogénica con bajo índice glicémico. El mecanismo de acción de estas dietas continúa en investigación, no obstante, la teoría principal a la que se le atribuye su éxito como tratamiento ante la epilepsia es debido a que durante la cetosis existe una mayor eliminación del glutamato, así como una reducción de su

transporte vesicular y un incremento en su conversión al neurotransmisor GABA (Vásquez-Builes *et al.*, 2019).

Este tratamiento ha reportado la disminución de al menos un 50% del número de crisis epilépticas en la mitad de los pacientes, una reducción de más del 90% de las convulsiones en una tercera parte de estos (Rebollo G. *et al.*, 2020); así como un efecto neuroprotector en varios modelos animales con daño neuronal adquirido. Pese a esto, existe un aporte deficiente de micronutrientes y es indispensable una suplementación de vitaminas, minerales y elementos traza. Asimismo, se ha observado que este tratamiento puede ocasionar problemas digestivos, hepáticos y renales, además de dislipidemia, déficit nutricional y alteraciones en el crecimiento (García-Peñas, 2018; Ruiz Herrero *et al.*, 2021).

2.1.7. Modelos experimentales en animales

Debido a la importante carga mundial de la epilepsia, es necesario utilizar modelos experimentales en animales para conseguir un mayor conocimiento de los procesos fisiopatológicos, así como evaluar la eficacia y toxicidad de posibles nuevos tratamientos. Estos modelos son simples y proporcionan resultados que pueden ser repetidos, entre estos se encuentran: el test de electroshock máximo, el test subcutáneo de pentilentetrazol y el modelo de *kindling* eléctrico (García García *et al.*, 2009).

Los modelos de tipo agudo involucran una administración de sustancias químicas para incitar una alteración iónica y así provocar una actividad epiléptica en animales sanos (Ramos-Morales *et al.*, 2012).

2.1.7.1. Fármacos utilizados para inducir convulsiones

2.1.7.1.1. Pentilentetrazol (PTZ).

El pentilentetrazol (PTZ), metrazol o α - β -ciclopentametilentetrazol, se trata de un fármaco antagonista no competitivo de los receptores GABA_A, pues bloquea el canal del ión cloruro al interactuar con el sitio de unión a picrotoxina en dicho receptor. Es un modelo sencillo de manejar y muy utilizado para evaluar convulsiones tónico-clónicas, así como el efecto anticonvulsivante de nuevas moléculas o tratamientos, con el fin de que éstos funcionen como antagonistas del PTZ (Ramos-Morales *et al.*, 2012).

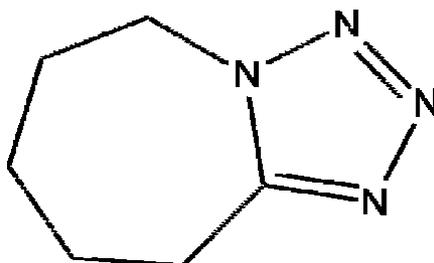


Figura 5: Estructura química de Pentilentetrazol

2.1.7.1.2. Estricnina (EST).

La estricnina (EST) es un alcaloide que actúa como un fuerte convulsivante, es utilizado frecuentemente en preparaciones veterinarias y rodenticidas, también como un estimulante del sistema nervioso central. Es un antagonista competitivo de la glicina, el cual es un neurotransmisor con función inhibitoria; la estricnina bloquea el incremento postsináptico de la glicina en los receptores de las neuronas motoras y ocasiona una disminución de la inhibición normal en estos grupos musculares, resultando en una actividad excesiva (Diez *et al.*, 2004; Makarovsky *et al.*, 2008). La EST se obtiene de *Strychnos nuxvomica* o *Strychnos ignatti*, esta sustancia tóxica es un potente convulsivante debido a que interfiere con la inhibición postsináptica causada por la Gli, que como se menciona es un inhibidor de la transmisión hacia las neuronas motoras e interneuronas

de la médula espinal. La EST actúa como un antagonista competitivo para bloquear los efectos de Gli sobre su receptor, un canal de cloruro activado por ligando, pero en diferentes sitios. Existe además evidencia de que esta sustancia provoca un incremento en los niveles cerebrales de glutamato, que incrementa la contracción muscular, por lo que el resultado final es la hiperexcitabilidad del músculo esquelético y la presencia de convulsiones (Ramesh *et al.*, 2014).

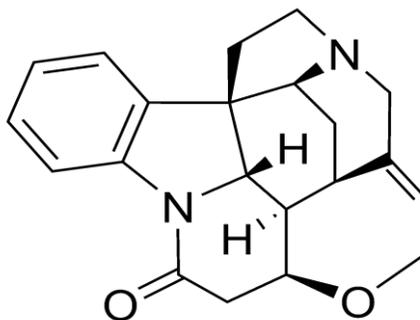


Figura 6: Estructura química de Estricnina.

2.1.7.1.3. Picrotoxina (PTX).

La picrotoxina es una sustancia tóxica convulsiva de origen vegetal, es obtenida de *Anamirta cocculus*, se trata de un alcaloide aprovechado para estimular el sistema nervioso central y como un antídoto para el envenenamiento por barbitúricos. Como antagonista no competitivo de GABA_A, la picrotoxina se encarga de bloquear el canal del ion cloruro que es activado por GABA, disminuyendo su conductancia (Joo Kim y Hibbs, 2021; NCBI-PubChem, 2022).

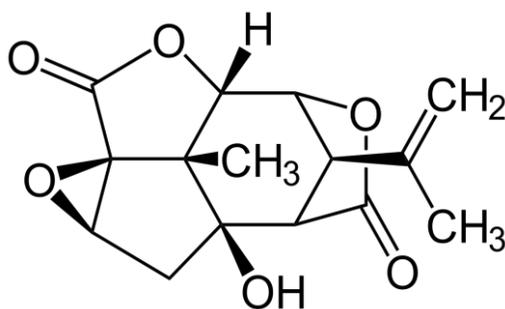


Figura 7: Estructura química de Picrotoxina

2.1.7.1.4. Diazepam (DZP)

El diazepam es un fármaco del grupo de las benzodiazepinas, el cual es utilizado para tratar la ansiedad, espasmos de músculos esqueléticos y trastornos convulsivos. Este fármaco es un modulador alostérico positivo del receptor GABA_A, su interacción con este sitio incrementa la entrada de cloruro en la unión de GABA, consiguiendo hiperpolarizar a las membranas postsinápticas, mostrando una acción calmante del sistema nervioso central. Usualmente es empleado como control en modelos de laboratorio en roedores en cuanto a la ansiedad y sedación se refiere, consiguiendo una validez del ensayo y resultados que pueden reproducirse (Calcaterra y Barrow, 2014).

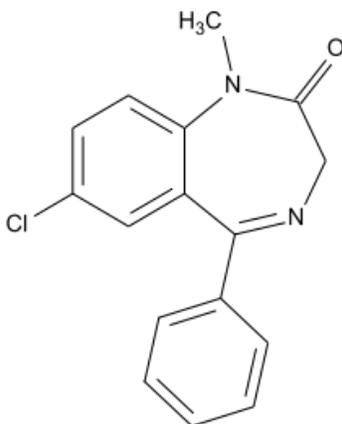


Figura 8: Estructura química de Diazepam

2.2. *Aloysia triphylla*.

Desde hace algunos años el estudio de las plantas medicinales y sus compuestos ha tomado importancia en la investigación científica, ya que muchas de ellas son útiles en el tratamiento de diversos trastornos. El presente trabajo de investigación propone la evaluación farmacológica de la especie *Aloysia triphylla* para identificar su actividad anticonvulsivante.

2.2.1. Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Verbenaceae

Género: *Aloysia*

Especie: *Aloysia triphylla* (L' Herit.) Br

(Recuperado de Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana:
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=aloyasia-triphylla>)

2.2.2. Descripción botánica

Aloysia triphylla, también conocido bajo el nombre de “cedrón”, “té cedrón”, “hierbaluisa”, “cidrón” o “hierba de la princesa”, según el país y región, se trata de un arbusto perenne aromático originario de la región montañosa del norte de Argentina, pertenece a la familia Verbenaceae que puede medir hasta tres metros de altura (Ramos Tejada, 2013).

Sus tallos son leñosos con una tonalidad rojiza y líneas longitudinales; las hojas son simples y presentan glándulas responsables de liberar una esencia con aroma similar al olor del limón, lanceoladas, poseen un limbo entero, son ligeramente pecioladas y reunidas en grupos de tres, gracias a esta característica obtiene el nombre “triphylla”. Sus flores son pequeñas y de color blanco en la parte exterior, mientras que al interior adquieren una tonalidad violácea; y su fruto consta de una drupa con dos semillas (Dellacassa y Bandoni, 2003; Monroy-Ortiz y Castillo-España, 2007).



Figura 9: *Aloysia triphylla*. Recuperado de Ramos Tejada, 2013.

2.2.3. Distribución

Esta planta se extiende desde Chile hasta Uruguay, Bolivia, Paraguay, el sur de Brasil y el centro y noreste de Argentina. Fue introducida en Europa y el norte de África, actualmente es cultivada en Venezuela, Perú, Estados Unidos y en México (Dellacassa y Bandoni, 2003; Ramos Tejada, 2013).

Distintas entidades de nuestro país se ven beneficiadas con esta planta, tales como Puebla, Estado de México, Tamaulipas, San Luis Potosí, Guanajuato, Jalisco, Quintana Roo, Ciudad de

México, Michoacán, Zacatecas, Tlaxcala, Veracruz, Morelos y principalmente Hidalgo (Figura 10), donde se da la producción de esta especie para su comercialización en la marca “Caxtle”, a fin de emplearse en infusiones (García Grijalva, 2018; Alvarez Cortes, 2020; EncicloVida-CONABIO).



Figura 10: Distribución de *Aloysia triphylla* en México.

2.2.4. Usos medicinales

El “cedrón” es una de las plantas medicinales más populares en México. La decocción o infusión de sus hojas y tallos se usa preferentemente para el tratamiento de afecciones gastrointestinales como atonía digestiva, espasmos gastrointestinales, dispepsias, gastritis, vómitos, inapetencias, dismenorreas, digestiones pesadas y dolores de estómago; como tranquilizante, calmante del sistema nervioso (ansiedad, insomnio), para favorecer el sueño nocturno y en los resfriados febriles (Pensiero *et al.*, 2002; Figueredo *et al.*, 2004).

En Bolivia se utiliza para tratar la hipertensión arterial, en Ecuador la fiebre, el dolor de cabeza y como diurético; y en Asia para disminuir los espasmos gastrointestinales y el resfriado común. Es aprovechado también como parte de saborizantes y esencias en la cosmética y perfumería, así como en la preparación de dulces, bebidas y postres en la repostería. En Sudamérica se utiliza para tratar la hipertensión arterial, disminuir la fiebre, el dolor de cabeza y se usa como diurético; en Asia es aprovechada para disminuir los espasmos gastrointestinales y el resfriado común.

También es utilizada de forma popular para controlar el vértigo, náuseas, calmar la congestión nasal y bronquial, reducir dolores estomacales, y es recomendada para tratar alteraciones nerviosas asociadas con la ansiedad (Rojas, Palacios y Ronceros, 2012; Álvarez-Rosales *et al.*, 2019).

En el estado de Morelos es común utilizarla para reducir dolores estomacales, cólicos, tratar el empacho, la diarrea, la disentería e incluso infecciones por lombrices (Monroy-Ortiz y Castillo-España, 2007).

La infusión de las hojas de *A. triphylla* es empleada para tratar el “susto”, nerviosismo, histerismo, la opresión del corazón y para lidiar con mordeduras de animales venenosos. También es utilizada de forma popular para controlar el vértigo, náuseas, calmar la congestión nasal y bronquial y es recomendada para tratar alteraciones nerviosas asociadas con la ansiedad (Dellacassa y Bandoni, 2003; Ramos Tejada, 2013).

2.2.5. Aceite esencial

Las hojas y tallos son ricos en aceite esencial, el cual es una mezcla de componentes volátiles resultantes del metabolismo secundario de las plantas; en el caso de *A. triphylla* está compuesto principalmente por citral, es decir, una mezcla de neral y geranial; limoneno y una variedad de terpenos.

Sin embargo, su composición no es constante y varía de acuerdo con el método de extracción, su duración, la temperatura, el estado y origen de la planta; además, la concentración de este aceite esencial en las hojas aumenta con un alto nivel de iluminación solar (Rojas *et al.*, 2010; Rojas, Palacios y Ronceros, 2012; Ramos Tejada, 2013).

2.2.5.1. Química y farmacología

Los estudios farmacológicos reportados en *A. triphylla* establecen que la infusión hecha con partes aéreas tiene actividad antipirética, analgésica, antiséptica, diurética y antiinflamatoria. Asimismo, el extracto de las raíces presenta actividad antidepresiva y antiespasmódica (Bakhshaei, 2017). Derivado de estudios fitoquímicos, esta especie posee compuestos como ganial, caryofileno, limoneno, canfor y luteolina, entre otros que han sido reportados con actividad antioxidante importante (Kim y Lee, 2004). Se ha reportado que esta especie posee actividad antinociceptiva, la cual fue atribuida principalmente a dos flavonoides identificados (artemitina y hesperidina). El aceite esencial de *A. triphylla* indujo un efecto sedante y anestésico a diferentes dosis en peces tambquí juveniles (*Colossoma macropomum*) (Qnais *et al.*, 2009; Brandão *et al.*, 2020).

A pesar de que no hay muchos estudios farmacológicos de la especie *A. triphylla*, sí existen reportes en otras especies del mismo género y de sus compuestos, un ejemplo es el terpeno citral, que posee actividad antimicótica, efecto espasmolítico, anticolinérgico, sedante, analgésica y

antioxidante (Dellacassa y Bandoni, 2003; Rojas Armas *et al.*, 2015). Así mismo, se ha establecido una posible aplicación del aceite esencial en odontología, gracias a sus propiedades bactericidas (Rojas, Palacios y Ronceros, 2012).

2.2.5.2. Efectos adversos

Existen ensayos preliminares para determinar la toxicidad de los extractos de *A. triphylla* y se recomienda no utilizar su esencia en perfumes, debido a su efecto irritante sobre la piel (Dellacassa y Bandoni, 2003; Huerta León *et al.*, 2021).

3. Justificación

La epilepsia es un trastorno cerebral crónico que se distingue por la presencia periódica de descargas abruptas y recurrentes en el cerebro conocidas como convulsiones, generadas por un incremento en la excitabilidad. Durante las crisis epilépticas existe una actividad neuronal excesiva y descontrolada, principalmente por una inhibición de la actividad en el sistema GABAérgico.

Con los datos que la OMS establece, la epilepsia es un trastorno neurológico común a nivel mundial, con 50 millones de personas afectadas, de las cuales el 80% pertenecen a países de ingresos bajos y medios. En México, alrededor de diez a veinte personas por cada mil padecen epilepsia, representando del 1.08 a 2% de la población total.

El uso de fármacos busca obtener un control de las crisis epilépticas y asegurar una buena calidad de vida del paciente, sin embargo, muchos de estos medicamentos provocan efectos adversos, pero más allá de esto, el 30% de los pacientes en el mundo son refractarios a los tratamientos existentes, lo que hace que su vida se deteriore en todos los planos al no contar con una medicación adecuada; por lo cual es necesaria la investigación de fuentes terapéuticas que puedan ser mejores, con menos efectos adversos y contribuir a encontrar un tratamiento que ayude a pacientes con resistencia a los fármacos anticonvulsivantes.

Las plantas medicinales son productores naturales de múltiples compuestos que son biológicamente activos en los organismos animales, por lo que, en la búsqueda incesante de nuevas terapias, la flora de todas las regiones se convierte en objeto de estudio. *Aloysia triphylla* es una especie utilizada en la medicina tradicional de México, se le atribuyen una gran variedad de usos, particularmente el presente proyecto se enfoca en sus propiedades sobre SNC. Se ha identificado su capacidad ansiolítica, debido a la presencia de una mezcla de ácidos grasos y esteroides, que ha demostrado interactuar con el sistema GABAérgico. Estos datos son los antecedentes que

permiten proponer que la planta pudiera estar ejerciendo un efecto anticonvulsivante en diferentes modelos biológicos.

4. Pregunta de investigación.

Los extractos y fracciones químicamente diferentes obtenidas de *Aloysia triphylla*, ¿tendrán la capacidad de proteger a los ratones con convulsiones inducidas con pentilentetrazol, picrotoxina y estriknina?

5. Hipótesis

Debido a los antecedentes etnomédicos y farmacológicos de *A. triphylla* sobre sistema nervioso central y particularmente por su participación sobre el sistema GABAérgico, la administración oral de los extractos hexánico (AtHex), metanólico (AtMet) y/o acetato de etilo (AtAcEt) y fracciones derivadas de éstos, inducen un efecto protector contra convulsiones inducidas con pentilentetrazol (PTZ), picrotoxina (PTX) y estriknina (EST).

6. Objetivos

6.1. Objetivo general:

Evaluar la actividad protectora de los extractos hexánico (AtHex), metanólico (AtMet) y acetato de etilo (AtAcEt) y fracciones derivadas de éstos, provenientes de *Aloysia triphylla* contra las convulsiones inducidas por tres diferentes tóxicos (PTZ, PTX y EST) sobre ratones de la cepa ICR.

6.2. Objetivos particulares:

- Evaluar la actividad de los extractos hexánico (AtHex), metanólico (AtMet) y acetato de etilo (AtAcEt) y sus fracciones provenientes de *A. triphylla*, sobre convulsiones inducidas con pentilentetrazol (PTZ).
- Determinar la actividad de los extractos hexánico (AtHex), metanólico (AtMet) y acetato de etilo (AtAcEt) y sus fracciones provenientes de *A. triphylla*, sobre convulsiones inducidas con picrotoxina (PTX).
- Medir la actividad de los extractos hexánico (AtHex), metanólico (AtMet) y acetato de etilo (AtAcEt) y sus fracciones provenientes de *A. triphylla*, sobre convulsiones inducidas con estriknina (EST).
- Realizar una caracterización química de la o las fracción (es) con mayor actividad anticonvulsivante en cualquiera de los ensayos (PTZ, PTX, EST) de *A. triphylla*, utilizando técnicas cromatográficas.

7. Metodología

En el siguiente diagrama se muestra de manera general el procedimiento que se llevó a cabo para investigar las propiedades anticonvulsivantes de la planta *A. triphylla*, se marcan dos fases: en verde, la que tiene que ver con el estudio químico de la especie, y en amarillo la actividad farmacológica (Diagrama 1).

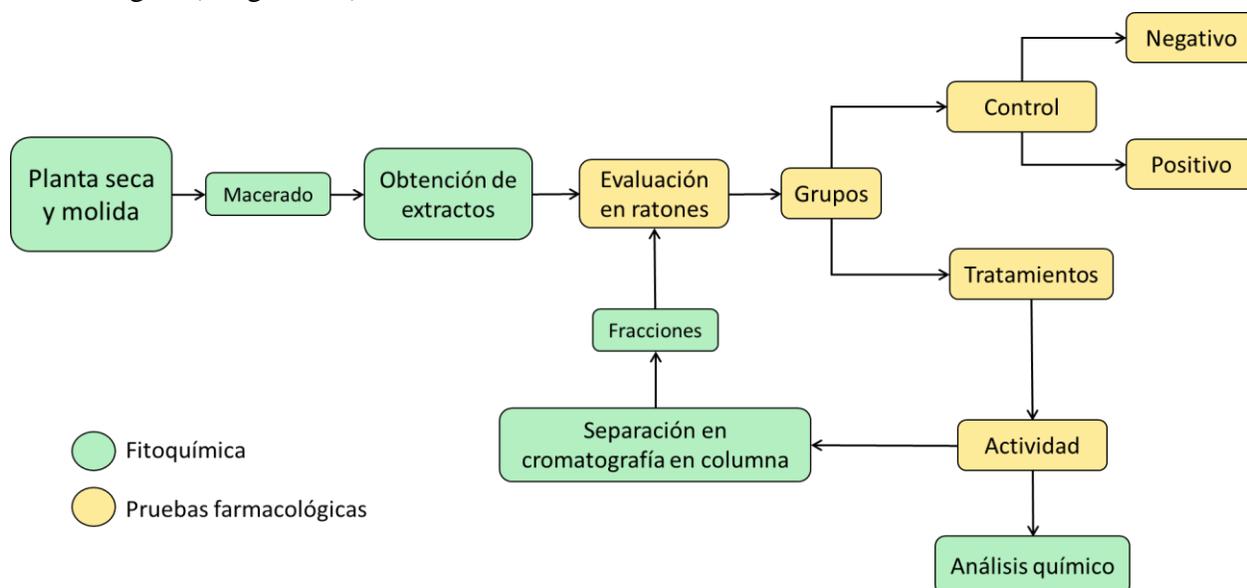


Diagrama 1. Procedimiento experimental general para el estudio químico y farmacológico de *A. triphylla*.

7.1. Colecta del material vegetal

Las partes aéreas de *A. triphylla* fueron colectadas en el municipio de Ozumba, Estado de México; colinda al noreste con el municipio de Ayapango de Ramos Millán, al noroeste con Amecameca de Juárez, al este con Atlautla de Victoria, al oeste con San Esteban Tepetlixpa y al sur con una angosta franja del estado de Morelos perteneciente al Municipio de Yecapixtla y Tetela del Volcán. Ozumba se encuentra a 19° 12' latitud norte, 98° 48' 14'' longitud oeste del meridiano de Greenwich y una altura de 2340 msnm. Se preparó un ejemplar de herbario para su identificación.

7.2 FITOQUÍMICA

7.2.1 Obtención de extractos

El material vegetal recolectado fue secado en un cuarto oscuro a temperatura ambiente. Posteriormente, se procesó en un molino marca Pulvex Plaxtic. Una vez en partículas de aproximadamente 4 mm, el material tuvo un peso de 998.9 g y se colocó en un recipiente de vidrio con un volumen de 5 litros y se dejó macerar con Hexano (AtHex) durante 3 días. De la misma forma, el material restante se dejó macerar con metanol (AtMet) y posteriormente con acetato de etilo (AtAcEt); el líquido recuperado mediante tres lavados consecutivos se concentró a presión reducida en un evaporador rotatorio marca “Heidolph” modelo “Laborota 4000” a 50°C para la eliminación del disolvente. Los extractos obtenidos (AtMet, AtHex y AtAcEt) se almacenaron para posteriormente conseguir mediante cromatografía en columna y en capa fina, las fracciones, de las cuales se obtuvieron 4 para su evaluación. Todo este material fue almacenado a -4 °C, para su uso en las pruebas farmacológicas.

7.2.2. Obtención de fracciones de AtMet

La separación de los componentes del extracto metanólico se realizó a través de cromatografía utilizando una columna de vidrio de 26 cm de largo y 10 cm de diámetro sobre 130 g de sílica gel 60 de fase normal, utilizando un sistema de elusión de diclorometano (CH_2Cl_2) y metanol (CH_3OH), recolectando fracciones de 300 ml cada una. Se obtuvieron 25 fracciones, las cuales se agruparon en cuatro reuniones de acuerdo con la similitud de sus compuestos observados en placas de cromatografía en capa fina.

7.2.2.1 Separación de la fracción número 22 de AtMet.

Con base en los resultados de las pruebas farmacológicas, se realizó una separación de los componentes de la fracción número 22 (F22) por medio de cromatografía, utilizando una columna de vidrio de 51.5 cm de largo y 3 cm de diámetro, empacando 4.325 g de extracto sobre 17 g de sílica gel 60 de fase normal, empleando un sistema de elusión de diclorometano (CH_2Cl_2) y metanol (CH_3OH), recolectando fracciones de 50 ml cada una. Se obtuvieron 36 fracciones.

7.2.3. Obtención de fracciones de AtHex.

La separación de los componentes del extracto hexánico se realizó a través de cromatografía empleando una columna de vidrio de 33 cm de largo y 4 cm de diámetro, empacando 20 g de extracto sobre 59 g de sílica gel 60 de fase normal, utilizando un sistema de elusión de hexano (C_6H_{14}) y acetato de etilo ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$), recolectando 4 fracciones por sistema, de 100 ml cada una. Se obtuvieron 32 fracciones, las cuales se agruparon en 12 reuniones y posteriormente 4 subreuniones de acuerdo con la similitud de sus compuestos observados en placas de cromatografía en capa fina.

7.2.4. Caracterización química

7.2.4.1. Cromatografía de Gases-Masas

De acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas farmacológicas, la composición química de la fracción más activa del extracto hexánico de *Aloysia triphylla* se determinó en un cromatógrafo de gases (GC, Agilent Technology 6890 masses coupled 5973N, Santa Clara, CA, EE. UU.) equipado con un detector de masas cuadrupolo en modo impacto de electrones a 70 eV. Los compuestos se resolvieron en una columna capilar HP 5MS (25 m de longitud, 0,2 mm de

diámetro interior, 0,3 μm de espesor de película). La temperatura del horno se fijó a 40°C durante 2 min, luego se aumentó de 40 a 260 °C a razón de 10 °C/min y se mantuvo a 260°C durante 20 min. La temperatura de la interfaz del detector de masas se ajustó a 200°C y el rango de adquisición de masas fue de 20 a 550. Las temperaturas del inyector y del detector se fijaron en 250 y 280°C, respectivamente. Se utilizó helio como gas portador, con un caudal de 1 mL/min.

7.2.4.2. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

El análisis por HPLC de los extractos y fracciones de *Aloysia triphylla* se llevó a cabo en un cromatógrafo líquido Waters 2695 equipado con un detector de matriz de fotodiodos de Waters 2996. La separación se realizó utilizando una columna RP C-18 Superspher (MERK) (120 x 4 mm; 5 μm).

7.2.4.3. Cromatografía acoplada a Masas

De acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas farmacológicas, se realizó un análisis por cromatografía acoplada a masas de la subfracción denominada MF28, resultante del fraccionamiento de AtMetF4-2 (Fracción 22 del extracto metanólico). Los pesos moleculares de los compuestos aislados fueron identificados usando un Acquity UPLC (Waters, Milford MA, EE. UU.). Este sistema de separación incluía una bomba cuaternaria, un horno de columna con muestreador automático y un detector de matriz de fotodiodos acoplado a un espectrómetro de masas triple cuádruple “Xevo” (Waters) equipado con una fuente de ionización por electroaspersión (ESI) (Waters) calentada a 150 °C. La temperatura de desolvatación 220 se ajustó a 500°C y el flujo de gas de desolvatación fue de 700 l / h de nitrógeno. Se utilizó argón como gas de colisión a un caudal de 0,10 ml / min., utilizando una columna RESTEK ultra C8, 3 μm de 50

x 2.1 mm a 25 grados centígrados con un sistema de gradientes, fase móvil donde A comienza con 100% agua 0.05% ácido fórmico y B acetonitrilo con 0% a los 15 min y 8100-0% de 17 a 20min con un flujo de 0.3 ml/min a 15 grados centígrados durante todo el análisis.

7.3 PRUEBAS FARMACOLÓGICAS

7.3.1. Animales de experimentación

Se utilizaron ratones macho de la cepa ICR con un rango de peso de 35 a 40 g, se formaron grupos de 7 animales y se mantuvieron en condiciones de 12 horas de luz por 12 horas de oscuridad, con alimento y agua a libre demanda. Los animales fueron tratados de acuerdo con las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-Z00-1999).

7.3.2. Reactivos y tratamientos experimentales

Los reactivos empleados pertenecen a la marca (Sigma-Aldrich, EUA): Pentilentetrazol (PTZ, 90 mg/kg), Estricnina (EST, 2.0 mg/kg), Picrotoxina (PTX, 15 mg/kg) y Diazepam (DZP, 1.0 mg/kg) como control anticonvulsivante. Estas sustancias se administraron por vía intraperitoneal (i.p.).

Los tratamientos experimentales provenientes de *A. triphylla* fueron el extracto metanólico (AtMet), hexánico (AtHex), el extracto de acetato de etilo (AtAcEt) y diferentes fracciones que se obtuvieron en el desarrollo de la parte química: a partir de AtMet y AtHex se consiguieron 4 fracciones por extracto, denominadas AtMetF1, AtMetF2, AtMetF3, AtMetF4; AtHexF1, AtHexF2, AtHexF3 y AtHexF4, respectivamente.

7.3.3. Convulsiones inducidas con Picrotoxina (PTX), Pentilentetrazol (PTZ) y Estrícina (EST).

Las convulsiones se produjeron en un mismo esquema general utilizando 3 tóxicos diferentes (Figura 11). Los tratamientos fueron administrados a diferentes grupos de ratones 1 hora antes de recibir el inductor de convulsiones correspondiente; PTX a 15 mg/kg, PTZ a 90 mg/kg y EST a 2.0 mg/kg vía intraperitoneal (ip) y enseguida los animales se colocaron por separado en cajas de acrílico transparente (25 × 15 × 10 cm). Durante 30 minutos, los animales fueron observados y con la ayuda de un cronómetro se registró la latencia (tiempo en que se presenta la primera convulsión), el número de convulsiones tónicas, clónicas y espasmos, además del tiempo de muerte (si es que se presentó), y en su caso, el tiempo de sobrevida en los 30 minutos primeros o a las 24 hrs.

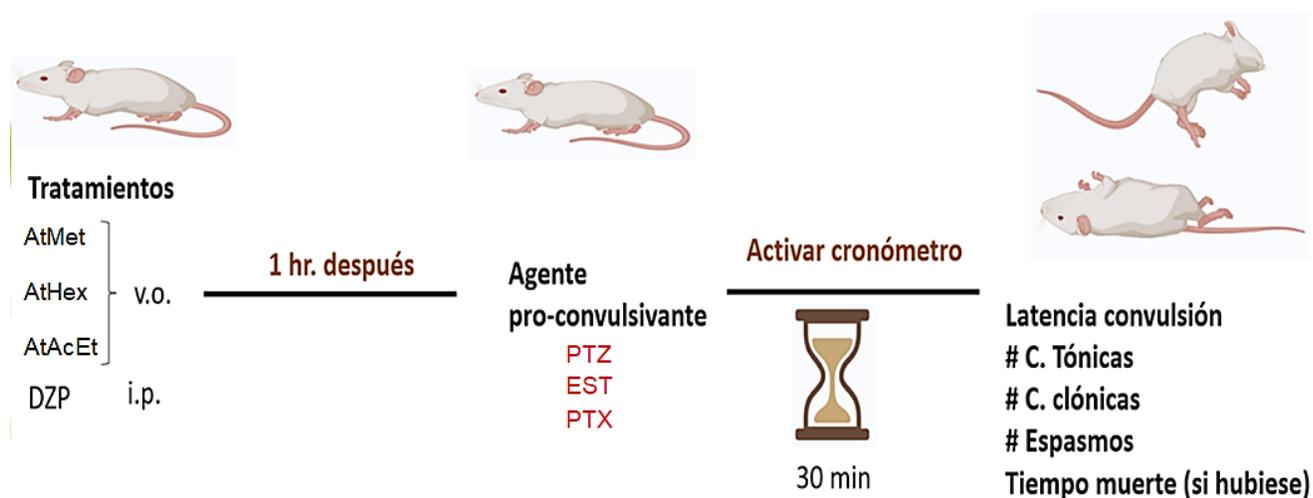


Figura 11. Esquema general de montaje de la prueba de convulsiones inducidas por químicos (PTZ, PTX y EST).

7.3.4. Tratamientos Evaluados.

Cada uno de los grupos que se señalan abajo (cuadro 2), tuvieron una n=7, aplicable para cada agente pro-convulsivante (PTZ, PTX, EST).

Cuadro 2. Tratamientos evaluados, dosis y vías de administración.

Grupo		Tratamiento	Dosis	Vía de administración
1	VEH (Control negativo o de daño)	Tween 20 al 1%, que es el vehículo en el cual se disolvieron todos los tratamientos.	-	Oral
2	DZP (Control positivo)	Diazepam	1.0 mg/kg	Intraperitoneal
3	AtMet	Extracto metanólico de <i>A. triphylla</i> .	500 mg/kg	Oral
4				
5				
6	AtHex	Extracto hexánico de <i>A. triphylla</i> .	500 mg/kg	
7				
8				
9	AtAcEt	Extracto de acetato de etilo de <i>A. triphylla</i> .	500 mg/kg	
10				
11				
12				
13			125 mg/kg	

14	AtAcEt	Extracto de acetato de etilo de <i>A. triphylla</i>	125 mg/kg	Oral	
15			750 mg/kg		
16					
17					
18	AtMetF1	Fracciones del extracto metanólico de <i>A. triphylla</i> .	100 mg/kg		
19	AtMetF2				
20	AtMetF3				
21	AtMetF4				
22	AtHexF1	Fracciones del extracto hexánico de <i>A. triphylla</i> .			
23	AtHexF2				
24	AtHexF3				
25	AtHexF4				
26	AtMetF4-1	Subfracciones del extracto metanólico de <i>A. triphylla</i> .			50 mg/kg
27	AtMetF4-2				
28	AtMetF4-3				
29	AtMetF4-4				
30	AtMetF4-5				
31	CGA	Ácido clorogénico	2.5, 5, 10 y 20 mg/kg		Oral

7.3.5. Análisis de datos

Los datos se analizaron con el programa estadístico IBM SPSS statistics 20, mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía con una post prueba de Dunnet, estableciendo una diferencia estadística en comparación con el grupo VEH (n=7, * $p < 0.05$).

8. Resultados

8.1 FITOQUÍMICA

8.1.1 Rendimiento de extracción.

El material vegetal colectado seco y molido tuvo un peso total de 998.9 g (Cuadro 3), con diferentes rendimientos para cada extracto.

Cuadro 3. Rendimiento (g) obtenido durante el proceso de maceración y concentración de los diferentes extractos de *A. triphylla* por cada 100g de planta seca y molida.

Material vegetal	Extracto (g)	Rendimiento (%)
998.9 g de planta seca y molida (<i>Aloysia triphylla</i>)	AtMet (4.42)	0.442
	AtHex (1.081)	0.1082
	AtAcEt (1.631)	0.1632

Extracto metanólico (AtMet), hexánico (AtHex) y de acetato de etilo (AtAcEt) de *Aloysia triphylla*.

8.1.2. Fracciones obtenidas de AtMet

Debido a que el extracto metanólico indujo actividad protectora sobre las convulsiones inducidas con EST, se eligió éste para realizar un fraccionamiento del mismo, para lo cual se empleó cromatografía en columna y en capa fina, esta última para monitorear las fracciones obtenidas. Como se puede observar en el cuadro 4, con un sistema de elución de diclorometano y metanol ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$) se colectaron 25 fracciones y aquellas que fueron químicamente semejantes, fueron reunidas y se les asignó una clave. Finalmente, se obtuvieron 4 fracciones, las cuales fueron evaluadas farmacológicamente en la prueba de convulsiones inducidas con EST.

Cuadro 4. Resumen del fraccionamiento químico del extracto metanólico (AtMet).

Sistema de elución		Fracciones	Reuniones	Clave
CH_2Cl_2	CH_3OH			
100%	-	F1-F4	F1-F6	AtMetF1
95%	5%	F5-F9	F7-F15	AtMetF2
90%	10%	F10-F13		
85%	15%	F14-F17	F16-F20	AtMetF3
70%	30%	F18-F21		
50%	50%	F22-F25	F21-F25	AtMetF4
-	100%	F26		

8.1.3. Fracciones obtenidas de AtHex.

En el modelo de convulsiones inducidas con PTZ se observó que el extracto hexánico fue capaz de proteger a los ratones y, debido a esto, se decidió realizar un fraccionamiento del mismo a través de cromatografía en columna utilizando un sistema de elución de hexano y acetato de etilo ($C_6H_{14}/C_4H_8O_2$).

Como puede observarse en el cuadro 5, se obtuvieron 32 fracciones, de las cuales se realizaron 12 reuniones de estas de acuerdo con la similitud de sus componentes. Por último, se agruparon una vez más, consiguiendo un total de 4 sub-reuniones para ser evaluadas en la prueba de convulsiones inducidas con PTZ (Cuadro 5).

Cuadro 5. Resumen del fraccionamiento químico del extracto hexánico (AtHex)

Sistema de elución		Fracciones	Reuniones	Clave	Subreuniones	Clave
C_6H_{14}	$C_4H_8O_2$					
100%	-	F1-F4	F1	HR1	F7-F8	AtHexF1
95%	5%	F5-F8	F2-F6	HR2		
			F7-F8	HR3		
90%	10%	F9-F12	F9-F10	HR4	F11-F12	AtHexF2
			F11-F12	HR5		
80%	20%	F13-F16	F13-F14	HR6	F15-F17	AtHexF3
			F15-F17	HR7		

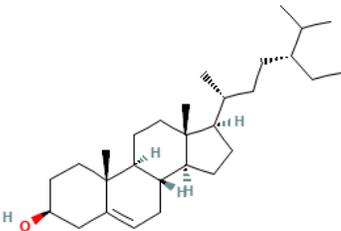
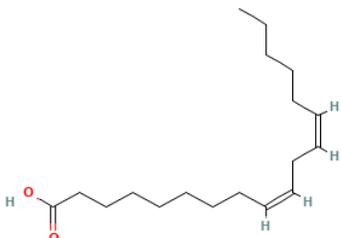
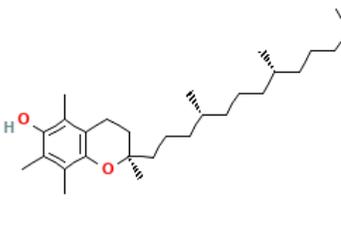
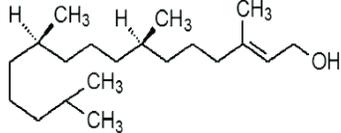
70%	30%	F17-F20	F18-F22	HR8	F27-F29	AtHexF4
60%	40%	F21-F24	F23-F24	HR9		
50%	50%	F25-F28	F25-F26	HR10		
			F27-F29	HR11		
30%	70%	F29-F32	F30-32	HR12	-	-
-	100%	F33	-	-	-	-

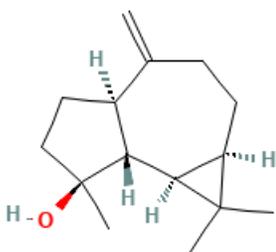
8.1.4. Análisis de cromatografía de Gases-Masas de AtHex

Al mostrar significativa actividad biológica sobre las convulsiones inducidas con PTZ y debido a la polaridad baja de la fracción AtHexF3, se realizó un análisis de cromatografía de Gases-Masas.

En el cuadro 6 se muestran los compuestos identificados en mayor porcentaje tras el análisis de cromatografía de Gases-Masas y algunos datos farmacológicos reportados en la literatura de éstos.

Cuadro 6. Análisis químico por la técnica de Gases-Masas de la fracción AtHexF3, derivada del extracto AtHex.

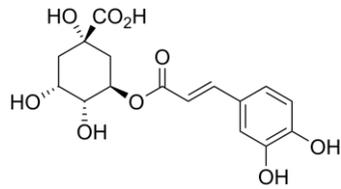
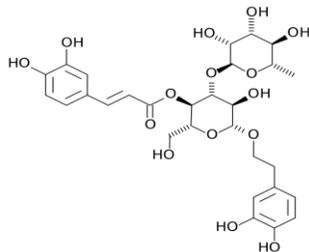
Tiempo de retención (min)	Porcentaje del total (%)	Nombre del compuesto	Estructura	Datos farmacológicos
35.841	31.251	β -Sitosterol		Se han reportado efectos ansiolíticos, antiinflamatorios, sedantes, y analgésicos, además de presentar actividad bactericida, hepatoprotectora, cicatrizante, antioxidante e hipolipemiante (Babu y Jayaraman, 2020).
20.766	10.532	Ácido linoleico		En modelos experimentales <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> , se han observado efectos anticarcinógenos, antidiabéticos, antiarterioescleróticos y como modulador del sistema inmune, además de favorecer la mineralización ósea y disminuir la grasa corporal (Gómez-Cortés <i>et al.</i> , 2019)
32.780	5.293	Vitamina E		Inhibe la neuroinflamación y la activación de las células gliales, contando con actividad antioxidante y neuroprotectora en modelos de epilepsia inducida con pentilentetrazol (Upaganlawar <i>et al.</i> , 2021).
20.313	3.558	Fitol		Presenta actividad anticonvulsiva, ansiolítica, antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana y antinociceptiva (Islam <i>et al.</i> , 2018).

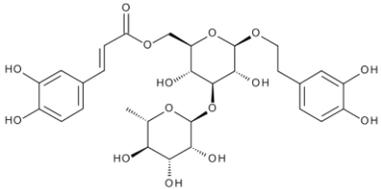
14.913	2.513	Espatulenol		Se ha reportado que tiene actividad antinociceptiva, antiinflamatoria, además de efectos ansiolíticos y antidepresivos (Dos Santos <i>et al.</i> , 2020).
--------	-------	-------------	---	---

8.1.5. Análisis cromatográfico de AtMetF4-2 (F22)

Con base en los resultados obtenidos en las pruebas farmacológicas y, al mostrar la subfracción AtMetF4-2 actividad biológica significativa, se realizó un análisis cromatográfico por medio de HPLC (cromatografía líquida de alta resolución) y por cromatografía acoplada a masas. En el cuadro 7 se muestran los compuestos identificados a través del análisis cromatográfico, así como algunos antecedentes farmacológicos reportados de éstos.

Cuadro 7. Análisis químico por HPLC y cromatografía acoplada a Masas de AtMetF4-2, derivada del extracto AtMet.

Nombre del compuesto	Estructura	Datos farmacológicos
Ácido clorogénico		Presenta actividad antioxidante, antiinflamatoria, antibacteriana, antiviral, hipoglucemiante e inmunomoduladora. Se ha reportado su actividad anticonvulsivante en pruebas con Pentilentetrazol (Miao y Xiang, 2020; Hossain <i>et al.</i> , 2021).
Verbascósido		Se han reportado efectos antioxidantes, neuroprotectores, antiinflamatorios y cardioprotectores (Zhu <i>et al.</i> , 2022).

Iso-Verbascósido		Existen reportes en los que se menciona que presenta actividad antioxidante (Chen <i>et al.</i> , 2002)
------------------	---	---

8.2 PRUEBAS FARMACOLÓGICAS

8.2.1. Efecto de los extractos metanólico, hexánico y de acetato de etilo de *Aloysia triphylla* sobre convulsiones inducidas con los diferentes tóxicos

8.2.1.1 Convulsiones inducidas con Pentilentetrazol (PTZ)

En la Figura 12A se muestran los datos de latencia (s), es decir, el tiempo desde que se administra el fármaco convulsivante (pentilentetrazol i.p., 90 mg/kg) y aparece la primera convulsión. Se aprecia que la administración por vía intraperitoneal de DZP a una dosis de 1.0 mg/kg produjo un aumento significativo del tiempo de latencia con respecto al grupo control negativo (Veh) (* $p \leq 0.05$), lo cual indica la confiabilidad de las pruebas realizadas. Sin embargo, con la administración por vía oral de los extractos metanólico, hexánico y de acetato de etilo a una dosis de 500 mg/kg no se indujo un efecto significativo en el tiempo de latencia tras la administración de PTZ con respecto al grupo de control positivo que fue administrado con DZP (# $p \leq 0.05$).

El número total de convulsiones hace referencia a la suma de tónicas y clónicas, las cuales se pueden observar en la figura 12B, donde los tres tratamientos de *A. triphylla* evaluados consiguieron una diferencia significativa con respecto al grupo administrado con DZP (# $p \leq 0.05$). Sin embargo, el extracto metanólico (AtMet, 500 mg/kg) consiguió una diferencia con respecto al grupo Veh, lo cual indica su efecto anticonvulsivo. En relación con el tiempo de sobrevivencia (s), sólo el extracto hexánico (AtHex, 500 mg/kg) logró ser significativamente diferente al Veh (* $p \leq 0.05$), consiguiendo que este tiempo se incremente (Figura 12C).

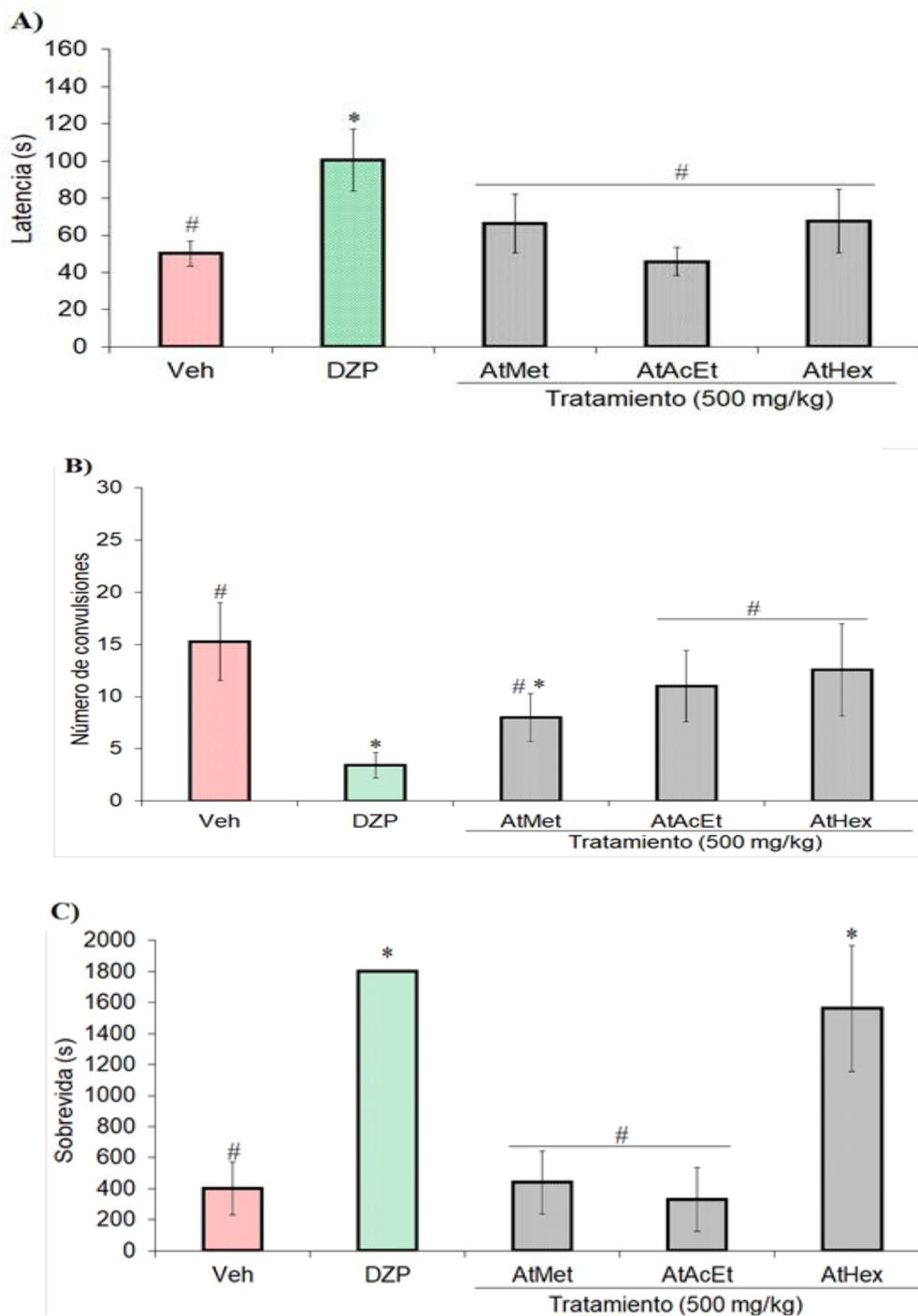


Figura 12. Efecto del extracto metanólico (AtMet), hexánico (AtHex) y de acetato de etilo (AtAcEt) de *A. triphylla* a una dosis de 500 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con PTZ. A) Latencia. B) Número total de convulsiones. C) Tiempo de sobrevida. ANOVA con una post-prueba de Dunnet, diferencia estadística cuando * $p \leq 0.05$ al compararse con el grupo Veh; y # $p \leq 0.05$ cuando se compara con el control positivo (DZP).

8.2.1.2 Convulsiones inducidas con estriknina (EST)

La latencia (s) después de la administración de EST (2.0 mg/kg) se muestran en la figura 13A y es estadísticamente menor que aquella observada en el grupo DZP, un efecto similar se puede distinguir cuando se administra el tratamiento AtAcOEt a los animales, ya que ambos grupos fueron significativamente diferentes respecto al grupo Veh (* $p < 0.05$), esto demuestra que dicho extracto incrementó el tiempo en que se presentaron las convulsiones.

En la figura 13B se observa que el grupo Veh que recibió vía oral Tween 20, tiene un mayor número de convulsiones que el grupo con DZP (* $p < 0.05$). El tratamiento con el extracto metanólico y el hexánico de *A. triphylla* redujeron significativamente el número de convulsiones totales en comparación con el Veh (* $p < 0.05$).

Finalmente, en cuanto al tiempo de sobrevida (figura 13C), sólo AtMet a 500mg/kg induce un aumento de dicho parámetro con relación al grupo de control negativo (Veh)(* $p \leq 0.05$).

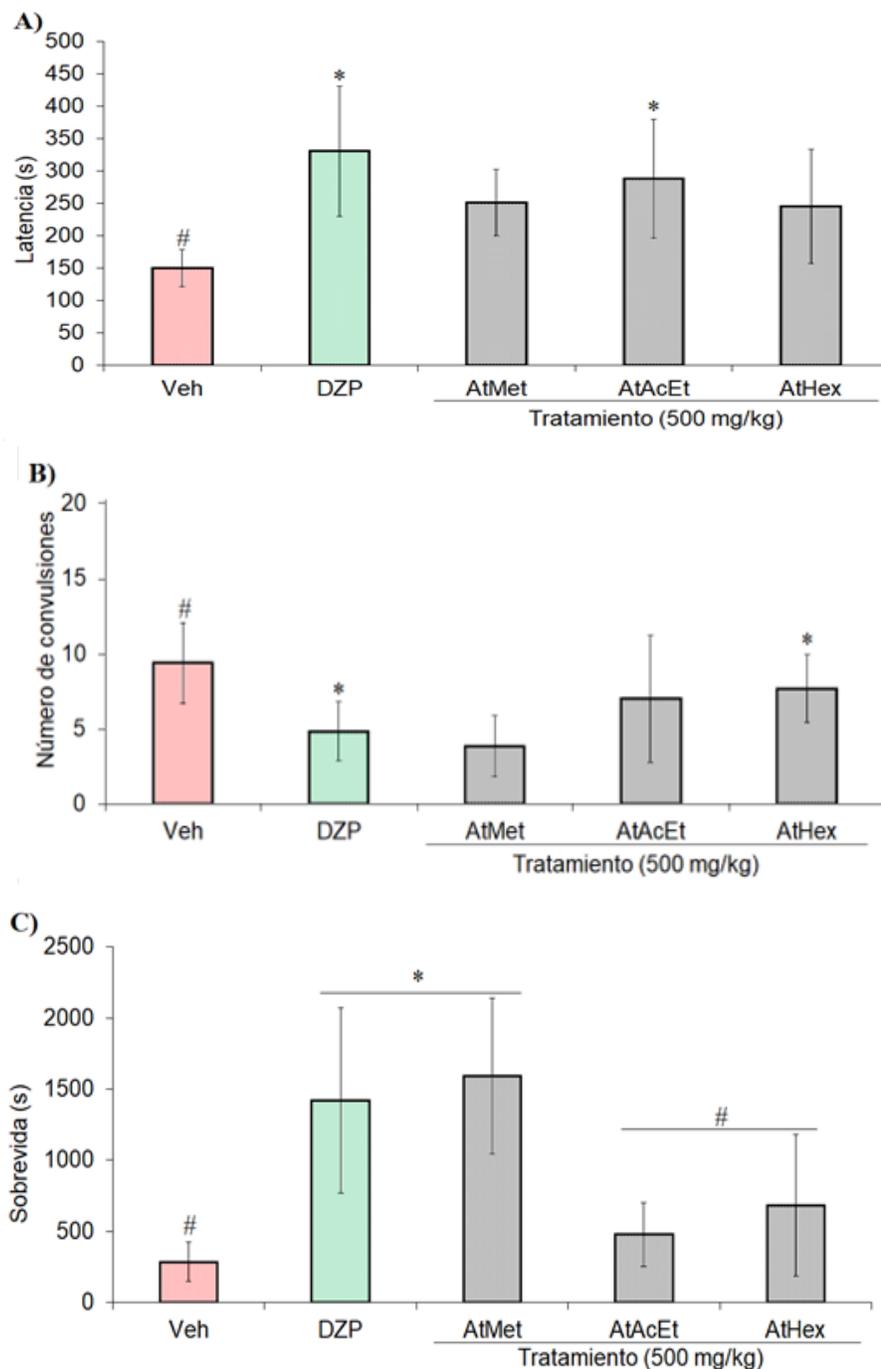


Figura 13. Efecto del extracto metanólico (AtMet), hexánico (AtHex) y de acetato de etilo (AtAcEt) de *A. triphylla* a una dosis de 500 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con EST. A) Latencia. B) Número total de convulsiones. C) Tiempo de sobrevida. ANOVA con una post-prueba de Dunnett, diferencia estadística cuando $*p \leq 0.05$ al compararse con el grupo Veh; y $\#p \leq 0.05$ cuando se compara con el control positivo (DZP).

8.2.1.3. Efecto de *A. triphylla* sobre convulsiones inducidas con picrotoxina (PTX)

La figura 14A muestra la latencia (s) obtenida durante las pruebas de convulsiones con la administración de picrotoxina (PTX i.p., 1.5 mg/kg), la cual se vio incrementada de forma significativa por los extractos metanólico y hexánico *A. triphylla* con respecto al grupo de control negativo (Veh) (* $p \leq 0.05$), fue administrado únicamente con el fármaco convulsivante PTX; sin embargo, los tres tratamientos provenientes de *A. triphylla* evaluados presentaron además, diferencia significativa con el grupo de control positivo al cual se le administró DZP (# $p \leq 0.05$).

En cuanto al número total de convulsiones (figura 14B), no se presentó diferencia significativa en los tratamientos de *A. triphylla* evaluados a una dosis de 500 mg/kg, con respecto a los grupos Veh y DZP, por lo que no se observó un efecto anticonvulsivo.

Del mismo modo, en la figura 14C se observa que no hubo diferencia entre los tratamientos evaluados y el grupo Veh (* $p \leq 0.05$); no obstante, los tres extractos (AtMet, AtHex, AtAcEt) mostraron diferencias al ser comparadas con el grupo DZP (# $p \leq 0.05$).

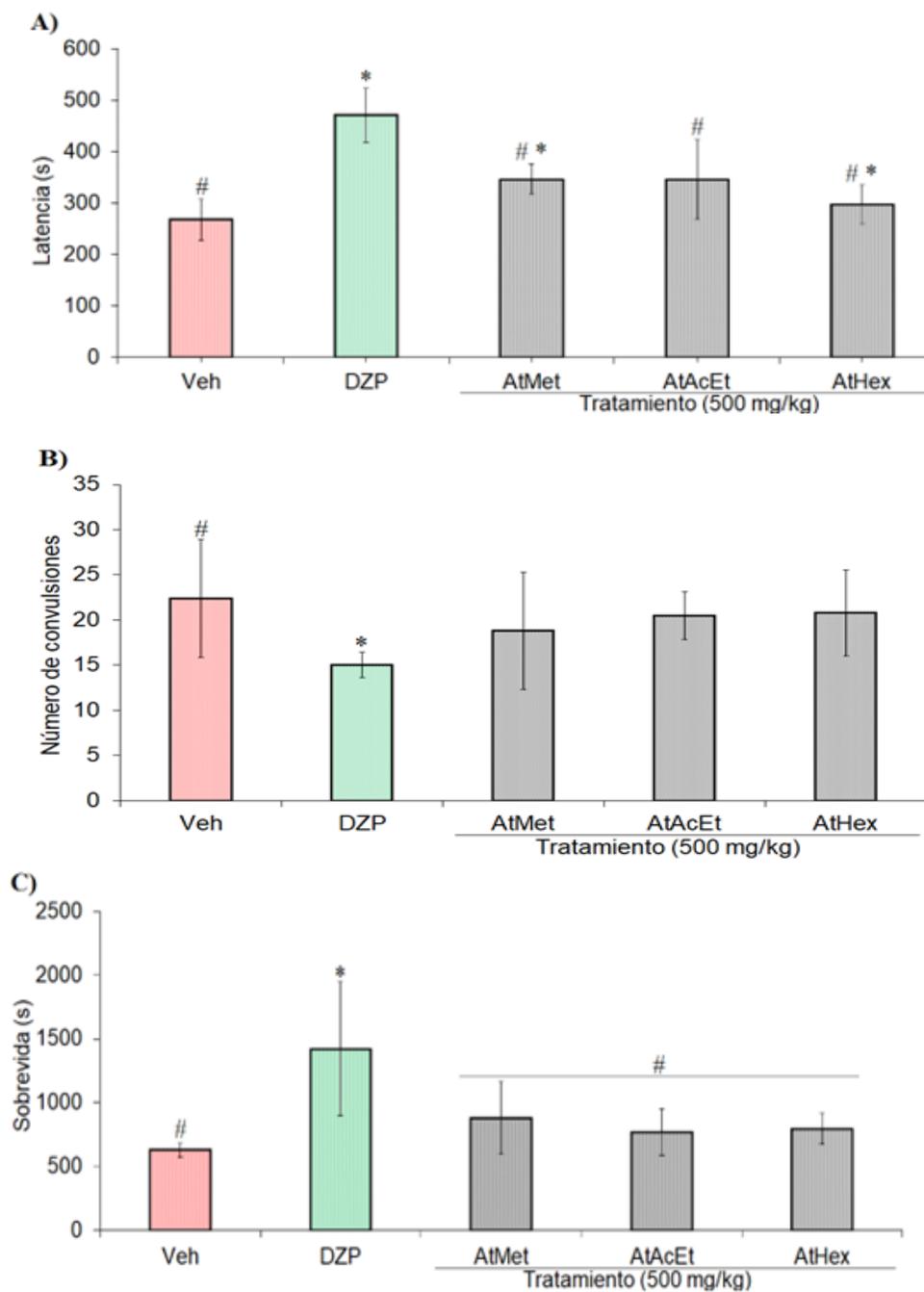


Figura 14. Efecto del extracto metanólico (AtMet), hexánico (AtHex) y de acetato de etilo (AtAcEt) de *A. triphylla* a una dosis de 500 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con PTX. A) Latencia. B) Número total de convulsiones. C) Tiempo de sobrevida. ANOVA con una post-prueba de Dunnet, diferencia estadística cuando $*p \leq 0.05$ al compararse con el grupo Veh; y $\#p \leq 0.05$ cuando se compara con el control positivo (DZP).

8.2.2. Efecto del extracto de acetato de etilo de *Aloysia triphylla* (AtAcEt) a 250 y 750 mg/kg sobre convulsiones inducidas con los diferentes tóxicos

8.2.2.1. Convulsiones inducidas con Pentilentetrazol (PTZ)

Con base en los resultados anteriores, el extracto de acetato de etilo no mostró una actividad significativa a una dosis de 500 mg/kg, por lo que dicho extracto fue evaluado nuevamente a una dosis menor (250 mg/kg) y mayor (750 mg/kg). En la figura 15 A se aprecian los datos de latencia obtenidos en las pruebas con pentilentetrazol (90 mg/kg i.p.), donde ambos tratamientos no consiguieron una diferencia significativa con respecto al grupo de control negativo (Veh) (* $p \leq 0.05$).

El número de convulsiones se puede observar en la figura 15B, donde se aprecia que la administración oral de AtAcEt a 750 mg/kg redujo dicho valor, siendo estadísticamente diferente al grupo Veh (* $p \leq 0.05$); es interesante mencionar que este tratamiento obtenido de *A. triphylla*, también mostró diferencias estadísticas cuando se comparó con el grupo DZP (# $p \leq 0.05$), por lo que, si bien logró reducir el número de convulsiones, este no consiguió un efecto similar al fármaco de referencia DZP. Con respecto al tiempo de sobrevida (s), ambas dosis evaluadas consiguieron incrementarlo con respecto al grupo Veh (* $p \leq 0.05$), no obstante, estos grupos también mostraron una diferencia estadística con el grupo de control positivo, DZP (# $p \leq 0.05$) (Figura 15C).

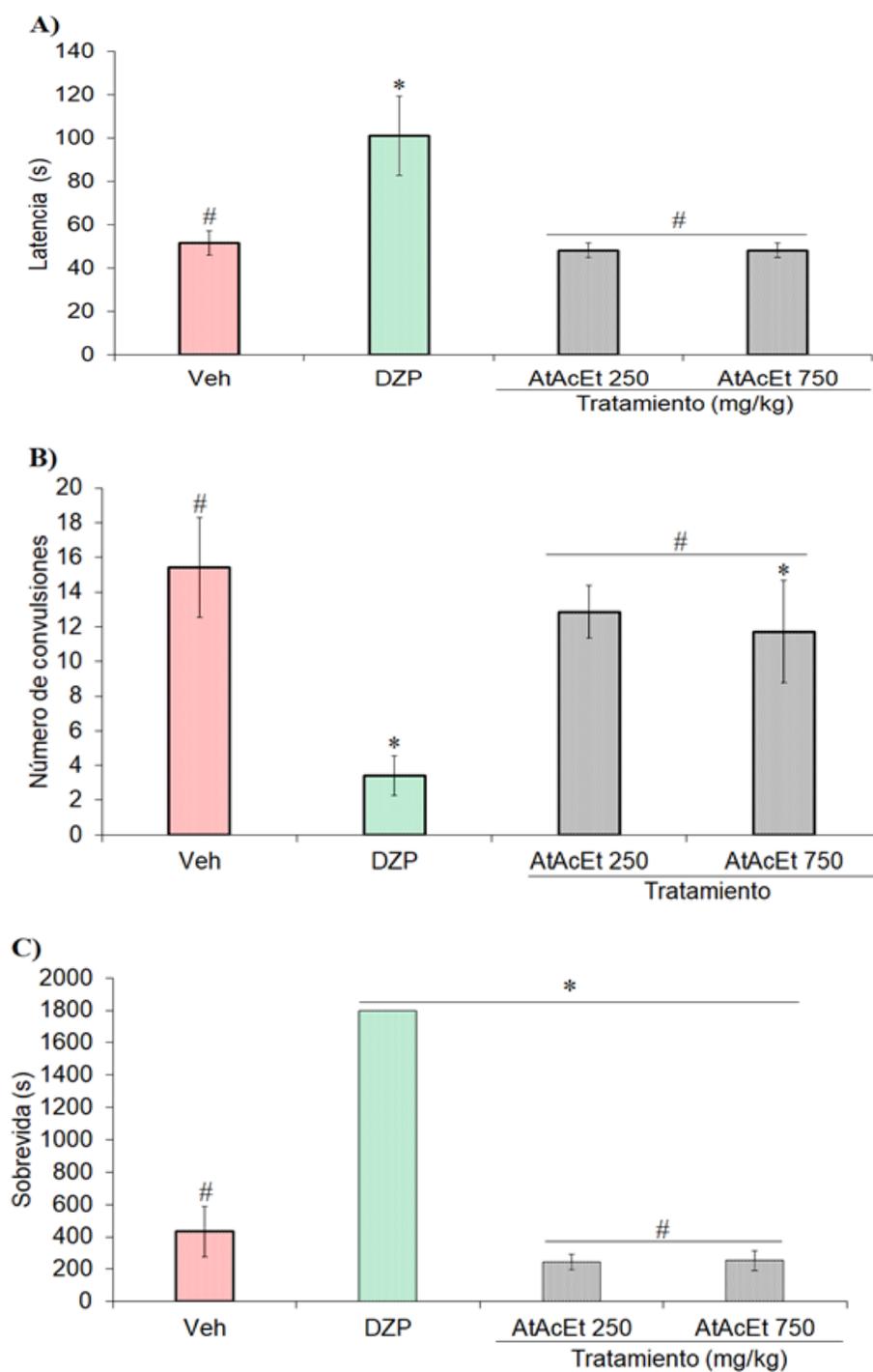


Figura 15. Efecto del extracto de acetato de etilo (AtAcEt) de *A. triphylla* a una dosis de 250 y 750 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con PTZ. A) Latencia. B) Número total de convulsiones. C) Tiempo de sobrevida. ANOVA con una post-prueba de Dunnet, diferencia estadística cuando $*p \leq 0.05$ al compararse con el grupo Veh; y # $p \leq 0.05$ cuando se compara con el control positivo (DZP).

8.2.2.2. Convulsiones inducidas con estriknina (EST)

La latencia (s) presentada tras la administración de estriknina se indica en la figura 16A: el grupo administrado con el extracto de acetato de etilo a 250 mg/kg consiguió incrementar el tiempo en que se presentaron las convulsiones con respecto al grupo Veh, sin embargo, ambas dosis obtuvieron valores estadísticamente diferentes a los del fármaco DZP (* $p \leq 0.05$).

El número de convulsiones (figura 16B) fue reducido tras la administración de AtAcEt a 750 mg/kg, pues se mostró una diferencia significativa con el grupo de control negativo (Veh) (* $p \leq 0.05$). Con respecto al tiempo en que sobrevivieron los animales durante las pruebas (figura 16C), ninguno de los dos tratamientos lograron incrementar este parámetro con respecto al grupo Veh (# $p \leq 0.05$).

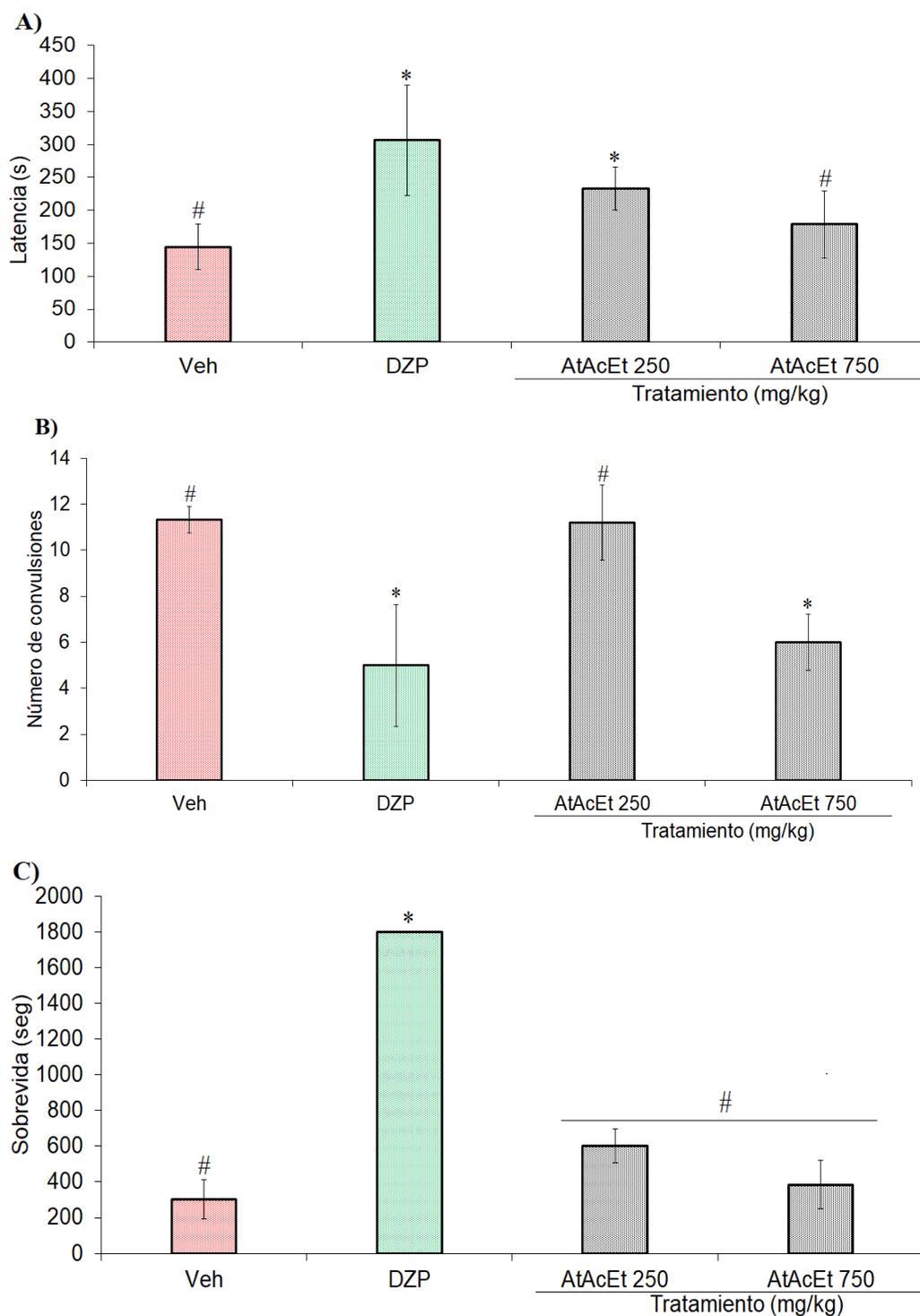


Figura 16. Efecto del extracto de acetato de etilo (AtAcEt) de *A. triphylla* a una dosis de 250 y 750 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con EST. A) Latencia. B) Número total de convulsiones. C) Tiempo de sobrevida. ANOVA con una post-prueba de Dunnet, diferencia estadística cuando * $p \leq 0.05$ al compararse con el grupo Veh; y # $p \leq 0.05$ cuando se compara con el control positivo (DZP).

8.2.2.3. Convulsiones inducidas con picrotoxina (PTX)

En la figura 17A se muestra la latencia (s) presentada en las pruebas de convulsiones tras la administración de picrotoxina, donde ninguna de las dosis evaluadas consiguió incrementar este parámetro respecto al control negativo (Veh) (* $p \leq 0.05$). En cambio, a una dosis de 750 mg/kg se observó una reducción en el número de convulsiones (figura 17B) con respecto al Veh (* $p \leq 0.05$).

Finalmente, en cuanto al tiempo de sobrevida (s), ninguna de las dos dosis evaluadas consiguió aumentar este valor respecto al Veh (* $p \leq 0.05$) y además, con un efecto significativamente diferente al fármaco DZP (# $p \leq 0.05$).

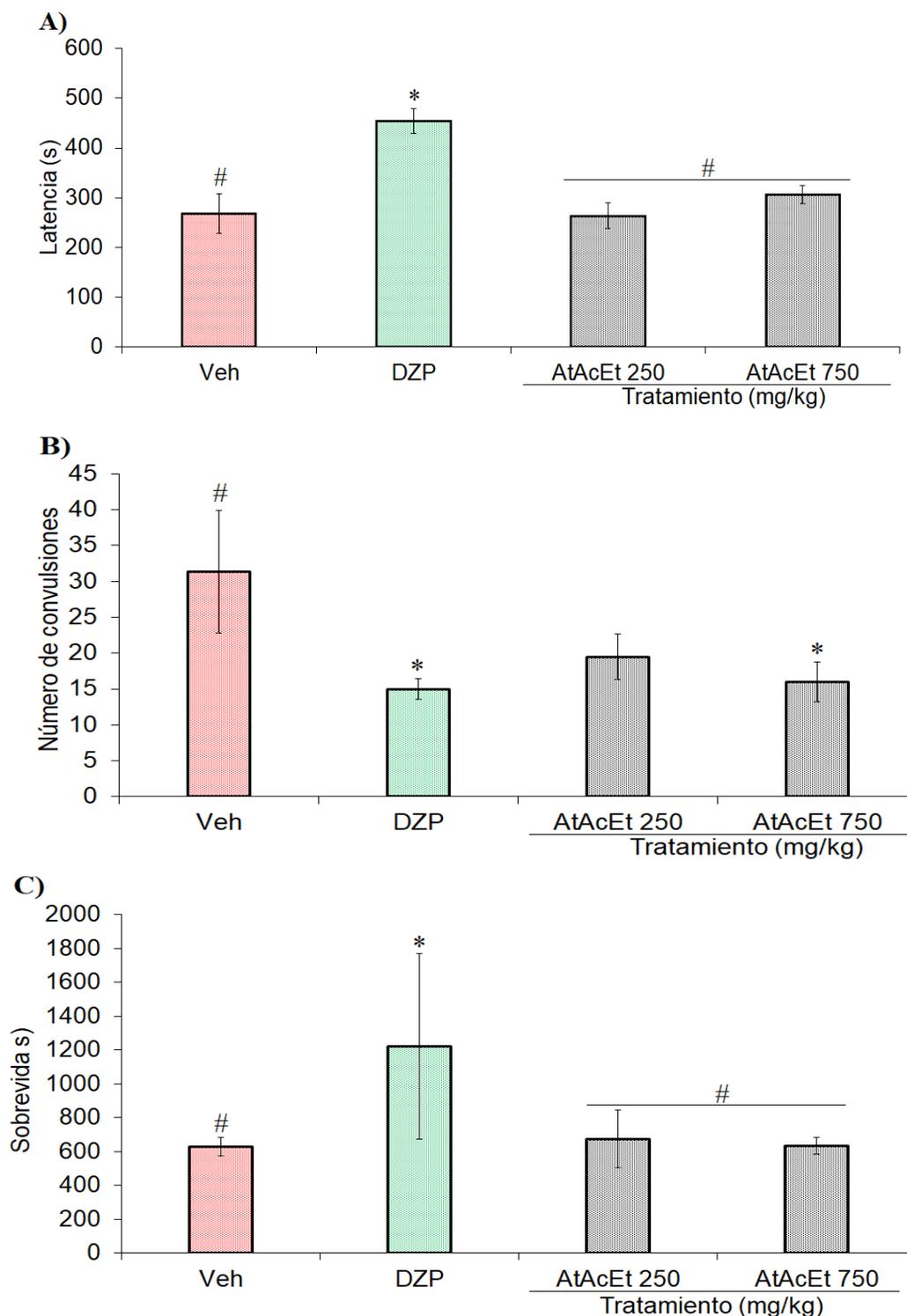


Figura 17. Efecto del extracto de acetato de etilo (AtAcEt) de *A. triphylla* a una dosis de 250 y 750 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con PTX. A) Latencia. B) Número total de convulsiones. C) Tiempo de sobrevida. ANOVA con una post-prueba de Dunnet, diferencia estadística cuando * $p \leq 0.05$ al compararse con el grupo Veh; y # $p \leq 0.05$ cuando se compara con el control positivo (DZP).

8.3. Porcentaje de sobrevida obtenido en pruebas farmacológicas de extractos de *Aloysia triphylla*.

Tratamiento	PTZ	EST	PTX
	%		
AtMet	0	85.71	0
AtHex	71.4	0	0
AtAcEt	0	14.28	0
AtAcEt (250 mg/kg)	0	0	0
AtAcEt (750 mg/kg)	0	0	0

8.4. Efecto de las fracciones de AtMet sobre convulsiones inducidas con EST

Debido a los resultados obtenidos tras la evaluación del extracto metanólico, se decidió realizar un análisis de las fracciones obtenidas de este tratamiento (v.o., 100 mg/kg); el tiempo de latencia alcanzado por dichas fracciones (figura 18A) resultó ser diferente a los valores del grupo de control positivo DZP ($\#p \leq 0.05$), sin embargo, este tiempo fue incrementado de forma significativa por las fracciones AtMetF1 y AtMetF4 con relación al grupo Veh ($*p \leq 0.05$) (EST i.p., 2.0 mg/kg).

En cambio, la figura 18B muestra que la fracción AtMetF4 consiguió reducir el número de convulsiones con respecto al Veh ($*p \leq 0.05$), evidenciando el efecto anticonvulsivo de dicho tratamiento. Finalmente, la fracción AtMetF3 y AtMetF4 mostraron un aumento significativo en el tiempo de sobrevida (s) con respecto al grupo Veh ($*p \leq 0.05$)(figura 18C).

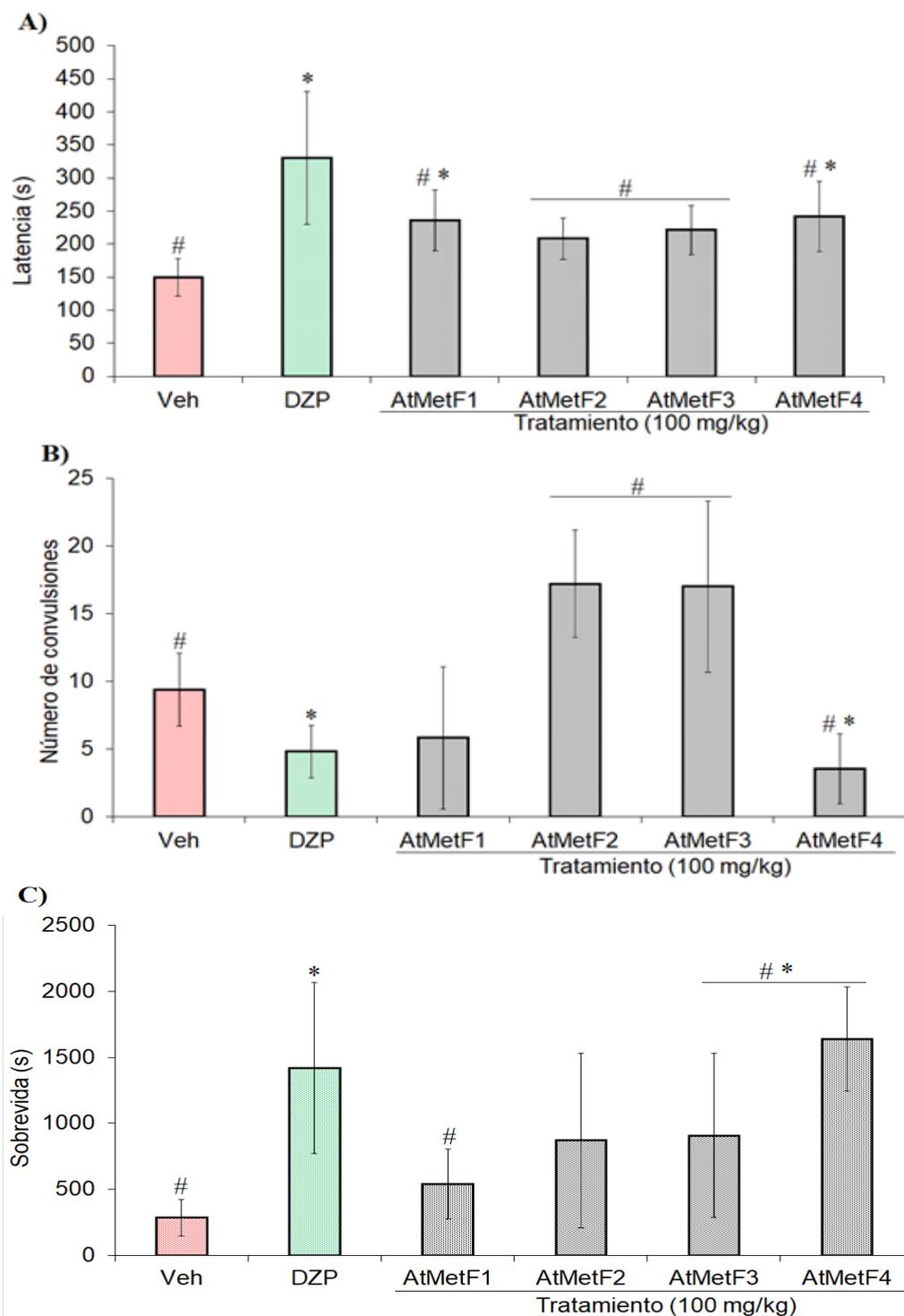


Figura 18. Efecto de las fracciones del extracto metanólico de *A. triphylla* a una dosis de 100 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con EST. A) Latencia. B) Número total de convulsiones. C) Tiempo de sobrevida. ANOVA con una post-prueba de Dunnet, diferencia estadística cuando * $p \leq 0.05$ al compararse con el grupo Veh; y # $p \leq 0.05$ cuando se compara con el control positivo (DZP).

8.4.1. Efecto de las subfracciones de AtMetF4 sobre convulsiones inducidas con EST

Con base en los resultados obtenidos de la evaluación de AtMetF4 induciendo convulsiones con estriknina, se evaluaron las subfracciones que componen a este tratamiento y se observó que la AtMetF4-2 (v.o., 50 mg/kg) consiguió un incremento significativo del tiempo de latencia (figura 19A) con respecto al grupo Veh (* $p \leq 0.05$) (EST i.p., 2.0 mg/kg).

En la figura 19B se muestra que no se presentó una reducción significativa sobre el número total de convulsiones durante las pruebas farmacológicas, lo que indica la ausencia de un efecto anticonvulsivo en estos tratamientos. Sin embargo, al comparar los parámetros del tiempo de sobrevida, se observó que las subfracciones AtMetF4-2, AtMetF4-4 y AtMetF4-5 consiguieron incrementar de manera significativa dicho valor con respecto al grupo Veh (* $p \leq 0.05$).

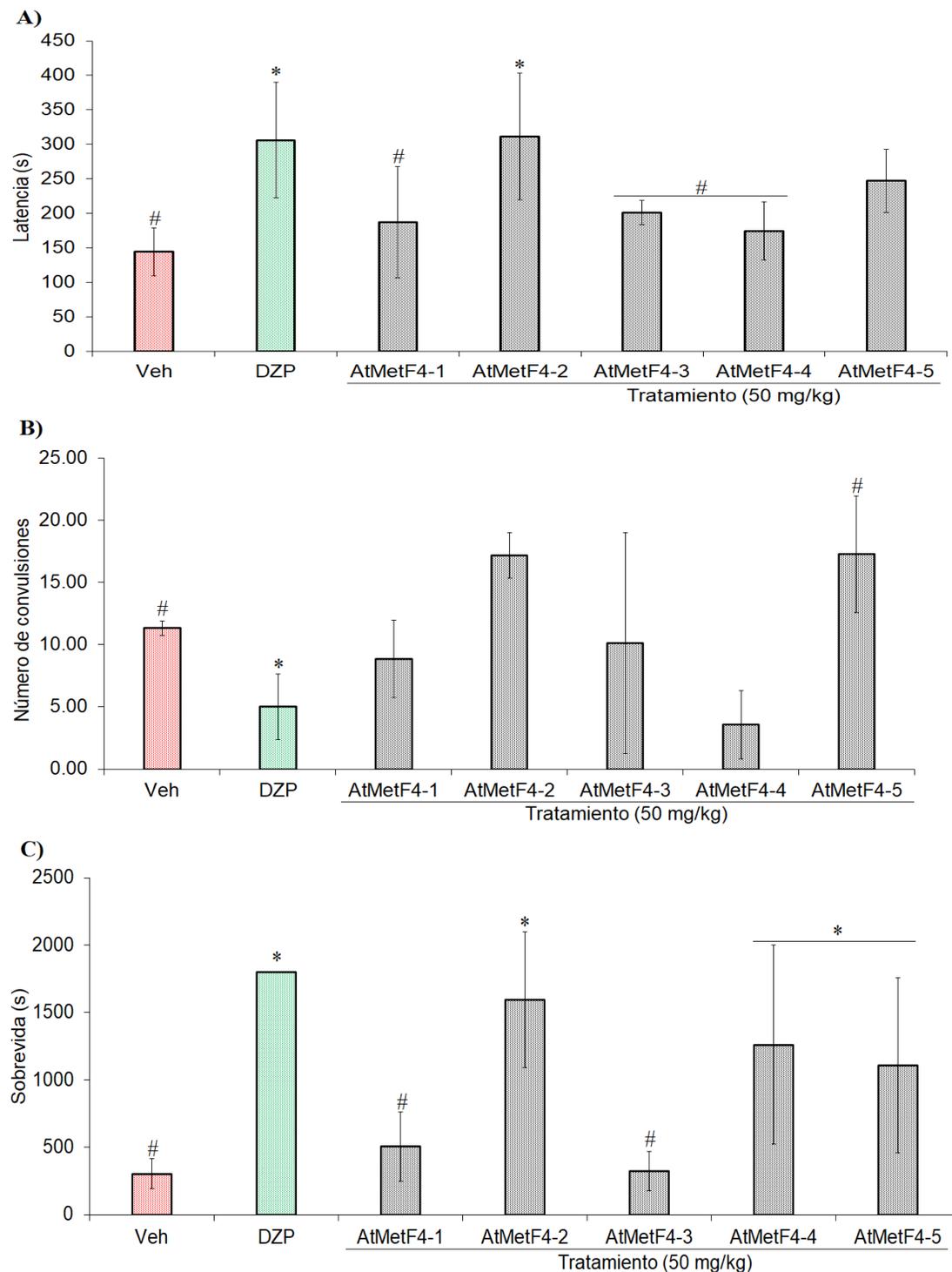


Figura 19. Efecto de las subfracciones del extracto metanólico de *A. triphylla* a una dosis de 50 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con EST. A) Latencia. B) Número total de convulsiones. C) Tiempo de sobrevida. ANOVA con una post-prueba de Dunnet, diferencia estadística cuando $*p \leq 0.05$ al compararse con el grupo Veh; y $\#p \leq 0.05$ cuando se compara con el control positivo (DZP).

8.5. Efecto de las fracciones de AtHex sobre convulsiones inducidas con PTZ

Tras observarse la actividad del extracto hexánico de *A. triphylla* sobre las convulsiones inducidas con PTZ, las fracciones derivadas de este (v.o., 100 mg/kg) obtuvieron los datos que se muestran en la figura 20A: el tiempo de latencia no aumentó significativamente por dichas fracciones con respecto al grupo de daño (Veh) (* $p \leq 0.05$), sin embargo, sí se presentó diferencia respecto al grupo de control positivo (DZP) (# $p \leq 0.05$). Del mismo modo, el número total de convulsiones que presentó cada uno de los grupos evaluados no se redujo de forma significativa en algún tratamiento.

En cuanto al tiempo de sobrevida (s), los grupos administrados con los tratamientos obtenidos de *A. triphylla* resultaron diferentes con respecto al grupo DZP (# $p \leq 0.05$); sin embargo, este valor se vio incrementado significativamente con respecto al grupo Veh (* $p \leq 0.05$) administrado con PTZ a 90 mg/kg por vía intraperitoneal.

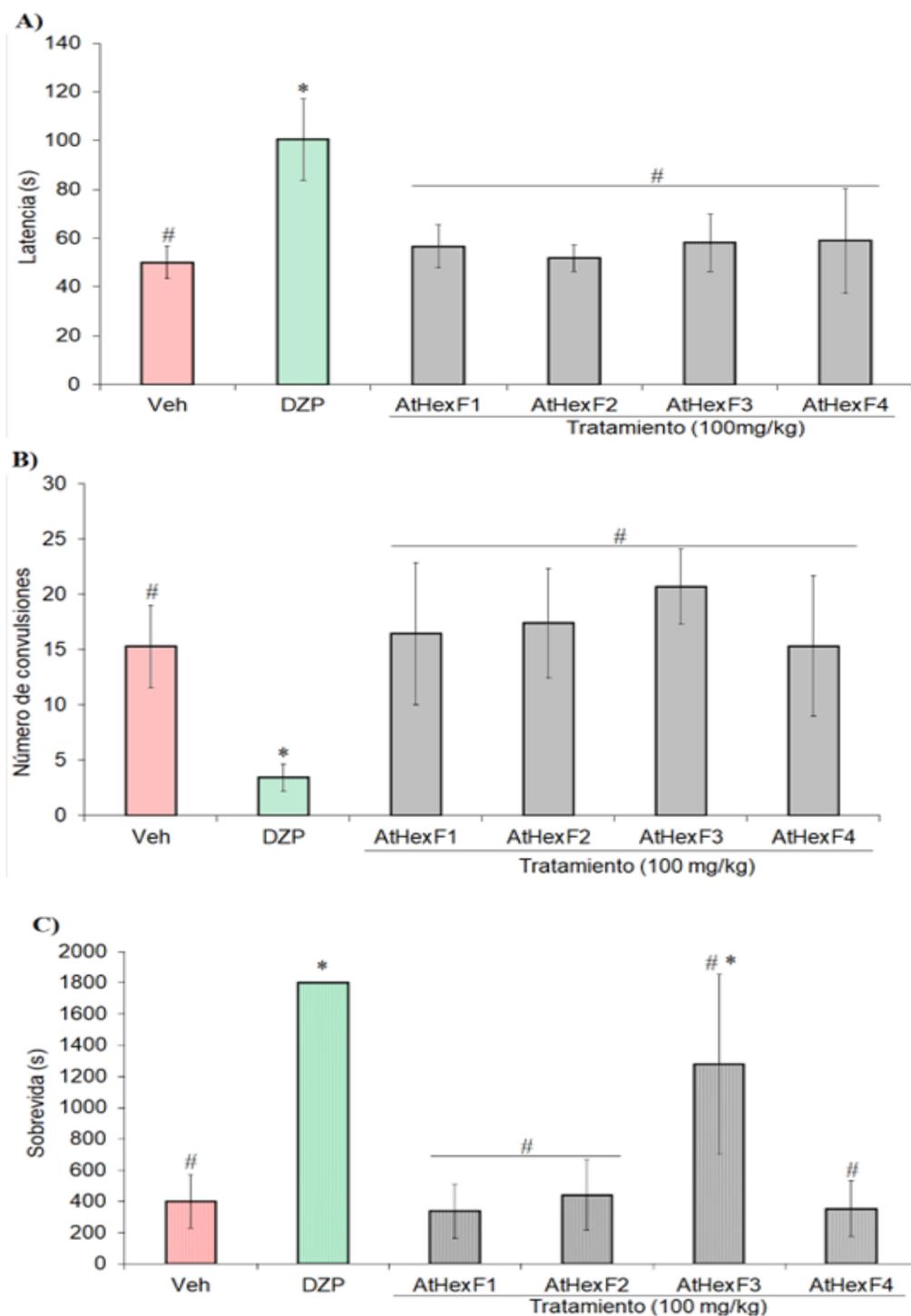


Figura 20. Efecto de las fracciones del extracto hexánico de *A. triphylla* a una dosis de 100 mg/kg sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con PTZ. A) Latencia. B) Número total de convulsiones. C) Tiempo de sobrevida. ANOVA con una post-prueba de Dunnet, diferencia estadística cuando * $p \leq 0.05$ al compararse con el grupo Veh; y # $p \leq 0.05$ cuando se compara con el control positivo (DZP).

8.6. Porcentaje de sobrevida de fracciones y subfracciones obtenido en pruebas farmacológicas con PTZ y EST.

Tratamiento	%
	PTZ
AtHexF1	0
AtHexF2	0
AtHexF3	50
AtHexF4	0
Fracciones	EST
AtMetF1	0
AtMetF2	28.58
AtMetF3	28.58
AtMetF4	87.5
Subfracciones	
AtMetF4-1	0
AtMetF4-2	83
AtMetF4-3	0
AtMetF4-4	42.85
AtMetF4-5	42.85

8.7. Efecto de CGA sobre convulsiones inducidas con EST

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis químico de AtMetF4-2, en el cual se reporta la presencia del ácido clorogénico (CGA) y que posee efectos anticonvulsivantes. Se procedió a realizar una evaluación de este compuesto a dosis de 20, 10, 5 y 2.5 mg/kg (v.o.) en la prueba de convulsiones inducidas con estricnina (2.0 mg/kg, i.p.).

A continuación, se muestran los datos de latencia (figura 21A), donde se observa que tras la administración de CGA a 10 y 5 mg/kg aumentó el tiempo en que se presentaron las convulsiones con respecto al grupo Veh (* $p \leq 0.05$), sin embargo, a 5 mg/kg también se obtuvo una diferencia significativa con el grupo de control administrado con DZP (# $p \leq 0.05$). El número total de convulsiones (figura 21B) se vió reducido con la dosis a 10 mg/kg con respecto al grupo Veh (* $p \leq 0.05$) y, además, dicha dosis junto con el grupo administrado a 5 mg/kg aumentaron el tiempo de sobrevida de los animales, pues presentaron una diferencia estadística con respecto al control negativo (* $p \leq 0.05$) (figura 21C).

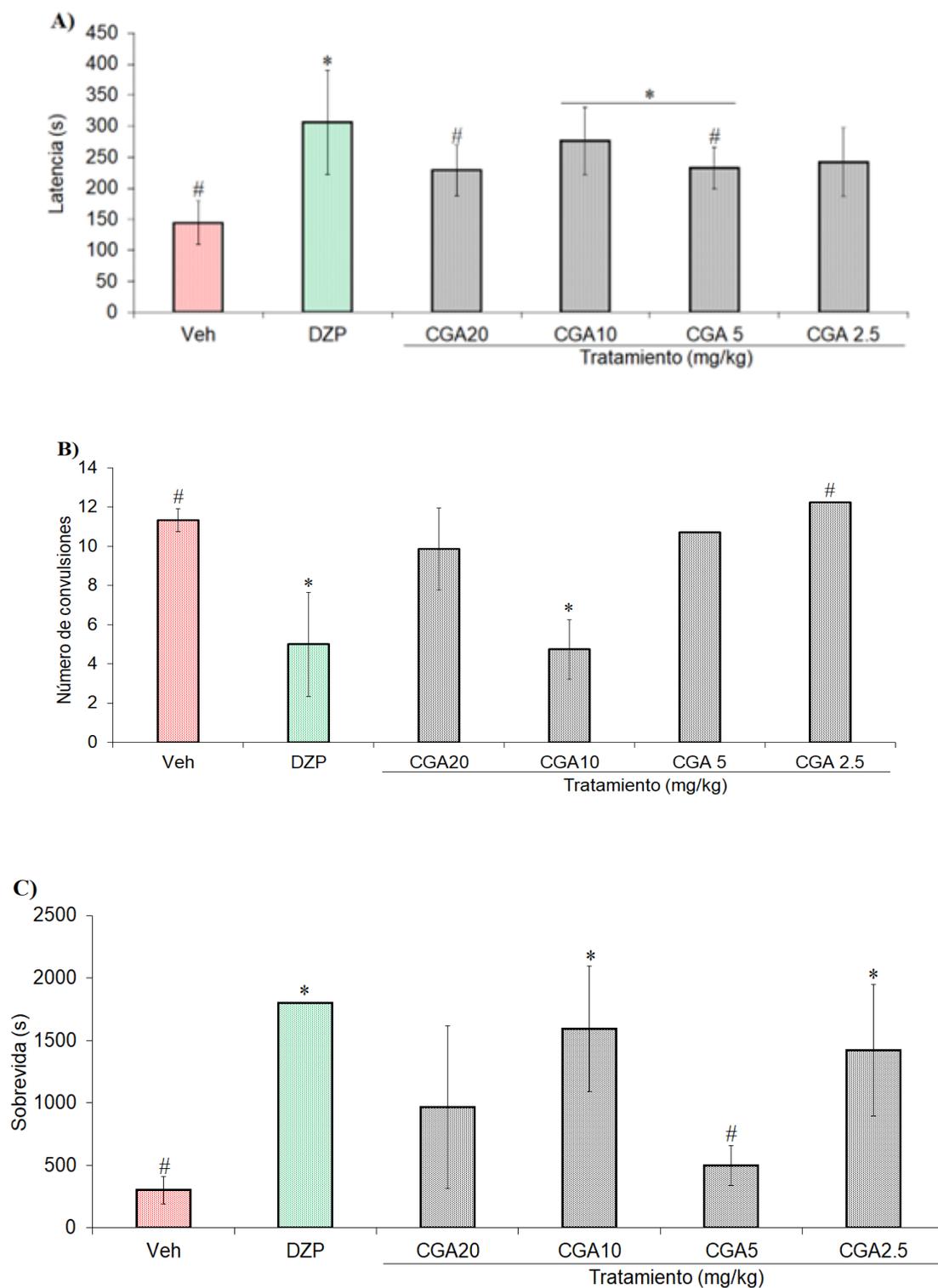


Figura 21. Efecto del ácido clorogénico sobre diferentes variables en la prueba de convulsiones inducidas con EST. A) Latencia. B) Número total de convulsiones. C) Tiempo de sobrevida. ANOVA con una post-prueba de Dunnet, diferencia estadística cuando * $p \leq 0.05$ al compararse con el grupo Veh; y # $p \leq 0.05$ cuando se compara con el control positivo (DZP).

9. Discusión

Aloysia triphylla es una especie medicinal ampliamente utilizada en diferentes regiones de México, su calidad de planta aromática es una cualidad que hace evidente su contenido químico en compuestos de tipo terpeno, como los monoterpenos, que hacen que tenga su atractivo olor. Pero más allá de eso, la planta es recurrida para tratar padecimientos del sistema nervioso central, como tranquilizante; estudios farmacológicos muestran que esta hierba posee efecto ansiolítico por modular, en parte, la neurotransmisión GABAérgica y glutamatérgica (Jiménez-Ferrer *et al.*, 2017). Ambos sistemas neuronales están involucrados ampliamente en la fisiopatología de la epilepsia, así que la modulación farmacológica de ambos es una herramienta ampliamente utilizada para descubrir nuevos tratamientos que puedan ser útiles en la terapia de la enfermedad y para los pacientes que son refractarios a los medicamentos actuales (Yoo & Panov, 2019).

La continua búsqueda de mejores alternativas que además mejoren la calidad de vida de las personas que sufren este padecimiento sigue vigente y las plantas son productoras naturales de una gran cantidad y variedad de compuestos que puedan ser útiles. Pero, además, no sólo aislados, sino que la mezcla de estos puede incrementar la posibilidad de un tratamiento adecuado que pueda incidir sobre los varios mecanismos fisiopatológicos involucrados.

En el presente proyecto de investigación se tuvo por meta el contar con al menos un extracto, una fracción y/o un compuesto con actividad anticonvulsivante a través de utilizar como inductores de alteración neuronal al pentilentetrazol, la picrotoxina y la estricnina; todos con diferente mecanismo de acción. Se observó que el mejor modelo para evidenciar el efecto protector de *A. triphylla* fue la estricnina, la cual tiene la capacidad de modular el sistema de glicina, aunque es pertinente señalar que la planta tiene constituyentes poco polares que también disminuyen el efecto pro-convulsivante del pentilentetrazol. Mientras que el daño inducido con picrotoxina no fue bloqueado por ninguno de los tratamientos de esta especie.

El extracto AtHex se sometió a un análisis químico por la técnica de gases-masas acoplada a HPLC de una fracción activa en la prueba de PTZ, y se encontró que este tratamiento posee terpenos como β -sitosterol, que posee actividades demostradas sobre SNC como ansiolítico, sedante y analgésico (Babu y Jayaraman, 2020). Se ha mostrado además, que derivados de este compuesto como el Sit (2-tetrahydrofuroic acid) posee efecto antidepresivo que es bloqueado por la administración de bicuculina, un antagonista competitivo de los receptores GABA_A (Yin *et al.*,

2018), lo que indica que este tipo de compuestos interactúan con este sistema de neurotransmisión. De manera relevante, se ha demostrado que el β -sitosterol es capaz de elevar los niveles de GABA y Glutamato en el hipotálamo de ratones, también es capaz de regular a la alta la expresión de la enzima GAD-65 (glutamato descarboxilasa, indicando una modulación de la activación del sistema GABAérgico) (Liu *et al.*, 2020). Del ácido linoleico, otro compuesto de la fracción activa AtHexF3 de *A. tryphilla*, que fue administrado vía endovenosa a 100 nmol/kg también tiene capacidad anticonvulsivante cuando se prueba aislado en un modelo de convulsiones con PTZ (60 mg/kg) en ratas Wistar Albino Glaxo (Ekici *et al.*, 2014). Otros constituyentes de dicha fracción son la vitamina E, el fitol y el espatulenol. Las vitaminas tienen efectos antioxidantes, antiinflamatorios e inmunomoduladores que pueden ser beneficiosos para el tratamiento de la epilepsia. Ciertas epilepsias son dependientes de vitaminas o sensibles a ellas. Algunos autores señalan que la medicación con diferentes tipos de vitaminas deberían considerarse para terapia de la epilepsia (Yang *et al.*, 2023).

El análisis químico de la fracción AtMetF4-2 con actividad contra convulsiones inducidas con EST y proveniente del extracto metanólico, muestra que este tratamiento está constituido por ácido clorogénico, verbascósido e iso-verbascósido. El primero, ácido clorogénico, es además de antioxidante y antiinflamatorio (lo cual es significativo e importante para un efecto antiepiléptico por el proceso neurodegenerativo asociado), se ha reportado como anticonvulsivante en la prueba de PTZ (Miao y Xiang, 2020; Hossain *et al.*, 2021). La administración de 25 mg/kg de este compuesto reduce el número de convulsiones tónicas, aumenta el tiempo de latencia e incrementa el tiempo de supervivencia de las neuronas de cerebro completo de ratas Wistar (Soleimani *et al.*, 2021). De algunas plantas aromáticas como *Lippia citrifolia*, se ha demostrado que un extracto que lo tiene como uno de sus constituyentes es capaz de inhibir las convulsiones inducidas con PTZ a 90 mg/kg (Rashidian *et al.*, 2016). A la fecha, no se han hecho estudios con este compuesto puro sobre la epilepsia en modelos animales, sin embargo, como se puede ver en los resultados la fracción AtMetF4-2, está constituida por sólo 3 compuestos de los cuales uno de ellos, el iso-verbascósido, es un derivado del primero. A este último no se le ha identificado alguna actividad sobre SNC. Mientras que el verbascósido (25, 50 y 100 mg/kg) se sabe que tiene efecto ansiolítico y sedante, ambas actividades son bloqueadas por el flumazenil un antagonista de los receptores GABAérgicos, particularmente sobre el sitio a benzodiazepinas. Así que de este tratamiento

aislado de *A. triphylla*, se tienen dos componentes importantes cuyo mecanismo de acción sobre SNC es en parte asociado a GABA, lo que ayuda a explicar el efecto anticonvulsivante.

Sin embargo, es necesario resaltar que no hay datos de que esta especie medicinal tenga efectos a nivel central que estén mediados por el receptor a glicina, tal como se observa cuando es capaz de antagonizar los efectos de la EST; los compuestos de la fracción AtMetF4-2 tampoco tienen reportes sobre su posible capacidad de interacción con la glicina.

Por lo tanto, este trabajo presenta por primera vez el efecto anticonvulsivante de la planta y su interacción con la glicina, además de abundar sobre el conocimiento de la constitución química de *A. triphylla*.

10. Conclusiones

1. La especie medicinal *Aloysia triphylla* posee actividad anticonvulsivante en dos modelos de convulsiones-inducidas químicamente (estricnina y pentilentetrazol).
2. La fracción AtHexF3 de *Aloysia triphylla*, aislada de extracto hexánico es una mezcla de compuestos de baja polaridad (β -Sitosterol, Ácido linoleico, Vitamina E, Fitol y Espatulénol) que son capaces de disminuir las convulsiones, incrementar la latencia y mejorar la sobrevivencia de los animales, al interactuar con el sistema de neurotransmisión GABAérgico, inhibiendo las acciones del pentilentetrazol.
3. La fracción AtMetF4-2 de *Aloysia triphylla*, aislada de extracto metanólico, está constituida por una mezcla de sólo 3 compuestos (ácido clorogénico, verbascósido e iso-verbascósido) y presenta una actividad anticonvulsivante por interactuar con el sistema de transmisión glicinérgico, esto debido a que bloquea las acciones de estricnina.

Perspectivas

1. Se propone el aislamiento de los compuestos contenidos en las fracciones para ser evaluados independientemente en el modelo de estricnina o pentilentetrazol.
2. Que la evaluación farmacológica incluya un análisis histológico que permita evidenciar que el nivel de protección está a nivel celular, en zonas cerebrales que son focos epileptogénicos, como hipocampo y corteza prefrontal.
3. También se proyecta hacer una evaluación anticonvulsivante con diferentes dosis de los compuestos que sea posible aislar.

Literatura citada

- Acuña Solís D. y Cusi Loza, B. (2013). *Estudio fitoquímico cualitativo, actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de Berberis boliviana Lechler (Chéqche), en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco].
- Alvarez Cortes, O. (2020). *Elaboración de una biopelícula comestible incorporando nanocápsulas de aceite esencial y extractos polifenólicos de Aloysia citriodora con actividad antiinflamatoria evaluado en un modelo biológico* [Tesis de maestría, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo] http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB_UMICH/2036.
- Álvarez-Rosales, J. D. Gaytán-Mares, D. L. Sosa-Morales, M. E. Baltazar-Vera, J. C. Cerón-García, A. (2019). Estimación de biocomponentes, color y pH en extractos etanólicos de tallos y hojas de cedrón (*Aloysia citrodora*). *Investigación y desarrollo en ciencia y tecnología de alimentos*. 4. 352-358.
- Aprison, M. H., & Werman, R. (1965). The distribution of glycine in cat spinal cord and roots. *Life Sci*. 4, 2075–2083. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(65\)90325-5](https://doi.org/10.1016/0024-3205(65)90325-5).
- Armijo, J. A., De las Cuevas, I. Adín, J. (2000). Canales iónicos y epilepsia. *Revista de neurología*, 30(1), S 25-S 41.
- Babu, S. & Jayaraman, S. (2020). An update on β -sitosterol: A potential herbal nutraceutical for diabetic management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110702. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110702>

- Bakhshaei, S. (2017). Phyto-pharmacological effect of nine medicinal plants as a traditional treatment of depression. *Journal of Applied Pharmacy*, 9(3):1-5.
- Balamurugan, G., Dharan, M., Rajan, S., (2009). Anti epileptic activity of poly herbal extract from Indian medicinal plants. *J. Sci. Res. I*, 153–159.
- Barakat, O. Fernández Pérez, M. J. Corrales Cruz, J. A. Gonzáles Fernández, F. J. Izquierdo Ayuso, G. y Fajardo Galvez, J. (2000). Estado epiléptico. *Medicina intensiva*, 24(9), 405-412.
- Brandão, F., Farias, C. F. S., de Melo Souza, D. C., de Oliveira, M. I. B., de Matos, L. V., Majolo, C., ... Chagas, E. C. (2020). Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. *Aquaculture*, 736275.
- Calcaterra, N. E. Barrow, J. C. (2014). Classic in chemical neuroscience: Diazepam (Valium). *ACS Chemical Neuroscience*. 5(4). 253-260.
- Chen, R. C., Su, J. H., Yang, S. M., Li, J., Wang, T. J., & Zhou, H. (2002). Effect of isoverbascoside, a phenylpropanoid glycoside antioxidant, on proliferation and differentiation of human gastric cancer cell. *Acta pharmacologica Sinica*, 23(11), 997–1001.
- Daly, E. C., & Aprison, M. H. (1974). Distribution of serine Hydroxymethyltransferase and glycine transaminase in several areas of the central nervous system of the rat. *J. Neurochem.* 22, 877–885. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1974.tb04312.x>
- Dellacassa, E. Bandoni, A. L. (2003). Hierbaluisa, *Aloysia citridora* Palau. *Revista de fitoterapia* 3(1). 19-25.

- Diez, T. Bagilet, D. Rassetto, M. López, G. Chiganer, G. Soldani, L. (2004). Intoxicación con estricnina en un paciente adicto a las drogas. *Medicina intensiva*. 28(2). 86-88.
- Dos Santos, E., Radai, J. A. S., do Nascimento, K. F., Formagio, A. S. N., de Matos Balsalobre, N., Ziff, E. B., Castelon Konkiewitz, E. & Kassuya, C. A. L. (2020). Contribution of spathulenol to the anti-nociceptive effects of *Psidium guineense*. *Nutritional Neuroscience*, 25(4), 812-822. <https://doi.org/10.1080/1028415x.2020.1815330>
- Ekici F, Gürol G, Ateş N. (2014). Effects of linoleic acid on generalized convulsive and nonconvulsive epileptic seizures. *Turk J Med Sci*. 44(4):535-9
- Eulenburg, V., & Gomeza, J. (2010). Neurotransmitter transporters expressed in glial cells as regulators of synapse function. *Brain Res. Rev.* 63, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2010.01.003>
- Figuereido, R:O.; Stefanini, M.B.; OrtizMaio-Marques, M. (2004). Essential oli composition of *Aloysia triphylla* (L´Herit) Britton leaves cultivated in Botucatu, Sao Paulo, Brazil. *ActaHortic*. 629, 211-219.
- Fonseca-Barriendos, D, Frías-Soria, CL, Pérez-Pérez, D, Gómez-López, R, Borroto Escuela, DO, Rocha, L. (2022). Drug-resistant epilepsy: Drug target hypothesis and beyond the receptors. *Epilepsia Open*. 7 (Suppl. 1): S23– S33. <https://doi.org/10.1002/epi4.12539>
- Fuertes de Gilbert Rivera, B. López Gutiérrez, R. y Gil Gregorio P. (2006). Epilepsia. *Tratado de geriatría para residentes*. (pp. 497-530). Sociedad Española de Geriatría y Gerontología.

García García, M. E. García Morales, I. Matías Guiu, J. (2009). Modelos experimentales en epilepsia. *Neurología*. 25(3). 181-188.

García Grijalva, J. L. (2018). *Extracción de aceite esencial de cedrón [Aloysia triphylla (L'Her.) Britton] recolectado en Altotonga, Ver., y Evaluación de su actividad antioxidante* [Tesis de licenciatura, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla].

García-Peñas, J. J. (2018). Epilepsia, cognición y dieta cetogénica. *Revista de neurología*, 66(1), S71-5.

Hakami, T. (2021). Neuropharmacology of Antiseizure Drugs. *Neuropsychopharmacol Rep*. 41: 336–351. <https://doi.org/10.1002/npr2.12196>

Hall, J. E. (2016). Crisis epilépticas y epilepsia. *Guyton y Hall, Tratado de fisiología médica*. (13ra edición, pp. 910-935). Elsevier.

Huerta León, J. R. Samaniego Joaquín, J. W. Fuertes Ruiton, C. (2021). Composición química del aceite esencial de *Aloysia triphylla* “Cedrón” como insumo para la elaboración de un enjuague bucal. *Ágora revista científica*. 8(2). 64-67. DOI:<https://doi.org/10.21679/arc.v8i2.220>

Islam, M. T., Ali, E. S., Uddin, S. J., Shaw, S., Islam, M. A., Ahmed, M. I., Chandra Shill, M., Karmakar, U. K., Yarla, N. S., Khan, I. N., Billah, M. M., Pieczynska, M. D., Zengin, G., Malainer, C., Nicoletti, F., Gulei, D., Berindan-Neagoe, I., Apostolov, A., Banach, M., . . . Atanasov, A. G. (2018). Phytol: A review of biomedical activities. *Food and Chemical Toxicology*, 121, 82-94. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.08.032>

Joo Kim, J. Hibbs, R. E. (2021). Direct structural insights into GABAA receptor pharmacology. *Trends Biochem Sci*. 46(6). 502-517. doi:10.1016/j.tibs.2021.01.011.

- Juárez, M., Gómez-Cortés, P. & de la Fuente, M. N. (2018). Ácidos grasos trans y ácido linoleico conjugado en alimentos: origen y propiedades biológicas. *Nutrición Hospitalaria*. <https://doi.org/10.20960/nh.2466>
- Kar, D.M. Ruta, S.K. Moharana, L. Majumdar, S. (2014). Evaluation of anticonvulsivant activity of hydroalcoholic of *Mussaenda philippica* on animals. *Journal of Acute Disease* 3(1). 46-50. [http://dx.doi.org/10.1016/S2221-6189\(14\)60010-X](http://dx.doi.org/10.1016/S2221-6189(14)60010-X)
- Kandel E. R. Schwartz, J. H. Jessel, T. M. (2001). Estados de actividad cerebral: sueño, ondas cerebrales, epilepsia, psicosis y demencia. *Principios de neurociencia*. (4ta edición, pp. 768-770). McGraw-Hill interamericana de España.
- Kienle, G. S., Kiene, H., (2010). Review article: Influence of *V. album* L. (European mistletoe) extracts on quality of life in cancer patients; a systematic review of controlled clinical studies. *Integr. Cancer Ther.* 9(2); 142-157.
- Kim N.S., Lee D.S. (2004). Headspace solid-phase microextraction for characterization of fragrances of lemon verbena (*Aloysia triphylla*) by gas chromatography-mass spectrometry. *J Sep Sci.* 27(1-2):96-100.
- Lara Luján, S. Abrahin, J. M. Colla Machado, C. Clement, M. Coffey, P. Furnari, A. Marquez, F. Romano, L. M. (2017). Clasificación etiológica de la epilepsia de reciente diagnóstico en adultos mayores: ¿es útil la nueva propuesta?. *Neurología Argentina* 9,(2) 125-130.
- Liu, W. Ge, T. Pan, Z. Leng, Y. Lv, J. Li, B. (2017). The effects of herbal medicine on epilepsy. *Oncotarget*, 8(29). 48385-48397.

- Liu WL, Wu BF, Shang JH, Zhao YL, Huang AX. (2020). Moringa oleifera Lam Seed Oil Augments Pentobarbital-Induced Sleeping Behaviors in Mice via GABAergic Systems. *J Agric Food Chem.* 68(10):3149-3162
- López-Meraz M. L. Rocha, L. Miquel M. Hernández, M. E. Toledo Cárdenas, R. Coria-Ávila, G. A. García, L. I. Pérez Estudillo, C. A. Aranda Abreu, G. E. Manzo, J. (2009). Conceptos básicos de la epilepsia. *Revista Médica UV.* 31-37.
- Makarovsky, I. Markel, G. Holffman, A. Schein, O. Brosh-Nissimov, T. Tashma, Z. Dushnitsky, T. Eisenkraft, A. (2008). Strychnine - A killer from the past. *Toxic chemical compounds.* 10. 142-145.
- Manchishi, S. M. (2018). Recent advances in antiepileptic herbal medicine. *Current Neuropharmacology.* 16(1). 79-82.
- Marques, B. L., Oliveira-Lima, O. C., Carvalho, G. A., de Almeida Chiarelli, R., Ribeiro, R. I., Parreira, R. C., et al. (2020). Neurobiology of glycine transporters: From molecules to behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 118, 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.07.025>
- Miao, M., & Xiang, L. (2020). Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid. *Advances in pharmacology (San Diego, Calif.)*, 87, 71–88. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2019.12.002>
- Miroddi, M. Calapai, G. Navarra, M. Minciullo, P. L. & Gangemi, S. (2013). *Passiflora incarnata* L: ethnopharmacology, clinical application, safety and evaluation of clinical trials. *Journal of ethnopharmacology*, 150(3), 791–804. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.09.047>

Monroy-Ortíz, C. Castillo-España, P. (2007). *Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos*. 2da edición. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 31304, Picrotoxin. Consultado el 9 de junio de 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Picrotoxin>.

Oyemitan, I.A., Elusiyan, C.A., Onifade, A.O., Akanmu, M.A., Oyedeji, A.O., McDonald, A.G., (2017). Neuropharmacological profile and chemical analysis of fresh rhizome essential oil of *Curcuma longa* (turmeric) cultivated in Southwest Nigeria. *Toxicol. Rep.* 4, 391–398.

Pensiero, J.; Muñoz, J.; Martínez, V. (2002). Proyectos de Investigación aplicada a los recursos forestales nativos (PIARFON). Alternativas de sustentabilidad del bosque nativo del Espinal. Proyecto Bosques Nativos y Áreas Protegidas. Área Etnobotánica. Argentina.

Purves, D. Augustine, G. J. Fitzpatrick, D. Hall, W. C. Lamantia, A. S. McNamara, J. O. Williams, S. M. (2004). Canales y transportadores en *Neurociencia*. Editorial Médica Panamericana.

Qnais, E., Abu-Safieh, K., Abu-Dieyeh, M.H., Abdulla, F.A. (2009). Antinociceptive effect of two flavonoids from *Aloysia triphylla*. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 2(4): 197-170.

Ramesh C. Gupta, Michelle A. Lasher, Robin B. Doss, Dejan Milatovic. (2019). Skeletal muscle toxicity biomarkers. *Biomarkers in toxicology*. Academic Press. p. 355-373

- Ramos Tejada, S. A. (2013). *Efecto antiinflamatorio tópico del extracto etanólico de Aloysia triphylla (Cedrón), en animales de experimentación* [Tesis de licenciatura, Universidad Católica de Santa María].
- Ramos-Morales, F. R. Correa-Basurto, J. Saavedra-Vélez, M. Acosta-Hernández, M. E. Gasca-Pérez, E. Pérez-Palacios, A. Trujillo-Ferrara, J. (2012). *Archivo de Neurociencia (México)*. 17(1). 45-48.
- Rashidian, A., Farhang, F., Vahedi, H., Dehpour, A. R., Mehr, S. E., Mehrzadi, S., & Rezayat, S. M. (2016). Anticonvulsant effects of *Lippia citriodora* (Verbenaceae) leaves ethanolic extract in mice: Role of gabaergic system. *International journal of preventive medicine*, 7.
- Rebollo, M. J. Díaz SM., X. Soto R., M. Pacheco A., J. Witting E., S. Saroch R., I. Moraga M., F. (2020). Dieta cetogénica en el paciente con epilepsia refractaria. *Revista chilena de pediatría*, 91(5), 697-704. DOI: 10.32641/rchped.vi91i5.156
- Rojas Armas, J. Palacios Agüero, O. Ortiz Sánchez, J. M. López de la Peña, L. (2015). Evaluación de la toxicidad del aceite esencial de *Aloysia triphylla* Britton (cedrón) y de la actividad anti-*Trypanosoma cruzi* del citral, in vivo. *An. Fac. Med.* 76(2). 129-34. [dx.doi.org/10.15381/anales.v76i2.11137](https://doi.org/10.15381/anales.v76i2.11137)
- Rojas, J. Palacios, O. Ronceros, S. (2012). Efecto del aceite esencial de *Aloysia tryphylla* Britton (Cedrón) sobre el *Trypanosoma cruzi* en ratones. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*, 29(1). 61-68.
- Rojas, L. B. Velasco, J. Díaz, T. Gil Otaiza, R. Carmona, J. Usubillaga, A. (2010). Composición química y efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton contra patógenos genito-urinarios. *Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*. 9(1). 56-62.

- Ruiz Herrero, J. Cañedo Villarroya, E. García Peñas, J. J. García Alcolea, B. Gómez Fernández, B. Puerta Macfarland, L. A. y Pedrón-Giner, C. (2021). Terapias dietéticas cetogénicas en epilepsia: experiencia en 160 pacientes durante 18 años. *Anales de pediatría*. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2021.05.006>
- San-Juan, D. y Rodríguez-Méndez, D. A. (2020). Epilepsia como una enfermedad de redes neuronales. Un punto de vista neurofisiológico. *Neurología*. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2020.06.010>
- Sayyah, M., Nadjafnia, L., Kamalinejad, M., (2004). Anticonvulsant activity and chemical composition of *Artemisia dracunculus* L. essential oil. *J. Ethnopharmacol.* 94, 283–287.
- Semwal, D. P. Saradhi, P. P. Kala, C. P. & Sajwan, B. S. (2010). Medicinal plants used by local vaidyas in Ukhimath block, Uttarakhand. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 9 (3). 480-485.
- Shorvon, S. D. (2011). The etiologic classification of epilepsy. *Epilepsia*, 52(6), 1052-1057. Doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03041.x
- Singh, G. y Sander, J. W. (2020). The global burden of epilepsy report: Implications for low-and middle-income countries. *Epilepsy & Behavior*, 105. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.106949>
- Soleimani H, Rezvani ME, HafiziBarjin Z, Esmailidehaj M, Zaremhrjerdi F. (2021). Effects of chlorogenic acid on epileptic behavior and mRNA expressions of brain derived neurotrophic factor in the brain of aged rats. *Elderly Health Journal*; 7(2): 79-83).
- Torres Zambrano, M. Bustos Sánchez, J. L. Granados Llamas, F. (2011). Fisiopatología del estatus epiléptico. *Acta neurológica Colombiana*. 27(1). pp 11-20.

Upaganlawar, A. B., Wankhede, N. L., Kale, M. B., Umare, M. D., Sehgal, A., Singh, S., Bhatia, S., Al-Harrasi, A., Najda, A., Nurzyńska-Wierdak, R., Bungau, S. & Behl, T. (2021). Interweaving epilepsy and neurodegeneration: Vitamin E as a treatment approach. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143, 112146. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112146>

Valdés-Galván R. E. González-Calderon, G. Castro-Martínez, E. (2019). Epidemiología del descontrol de la epilepsia en un servicio de urgencias neurológicas. *Revista de neurología*. 68. 321.5. DOI: 10.33588/rn.6808. 2018218.

Vásquez-Builes, S. Jaramillo-Echeverri, P. Montoya-Quinchia, L. y Apraez-Henao, L. (2019). Dieta cetogénica como tratamiento de la epilepsia refractaria durante la infancia: revisión práctica de la literatura. *Revista Mexicana de Neurociencia* 20(1), 14-20. DOI: 10.24875/RMN.M19000022

Won, S. H. Jewells, V. Hadar, E. Fisher, T. Hinn, A. (2014). Review of epilepsy - Etiology, Diagnostic Evaluation and Treatment. *Int. J. Neurorehabilitation*. 1-3. DOI: 10.4172/2376-0281.1000130

Yang, M. T., Chou, I. C., & Wang, H. S. (2023). Role of vitamins in epilepsy. *Epilepsy & behavior: E&B*, 139, 109062. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2022.109062>

Yin Y, Liu X, Liu J, Cai E, Zhao Y, Li H, Zhang L, Li P, Gao Y. (2018). The effect of beta-sitosterol and its derivatives on depression by the modification of 5-HT, DA and GABA-ergic systems in mice. *RSC*. 8(2):671-680. doi: 10.1039/c7ra11364a

Yoo, J. Y., & Panov, F. (2019). Identification and Treatment of Drug-Resistant Epilepsy. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 25(2), 362–380. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000710>

Zhu, X., Sun, M., Guo, H., Lu, G., Gu, J., Zhang, L., Shi, L., Gao, J., Zhang, D., Wang, W., Liu, J., & Wang, X. (2022). Verbascoside protects from LPS-induced septic cardiomyopathy via alleviating cardiac inflammation, oxidative stress and regulating mitochondrial dynamics. *Ecotoxicology and environmental safety*, 233, 113327. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113327>

ANEXOS

Anexo 1: Glosario

AMPA: receptor del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico, es un receptor transmembrana ionotrópico para glutamato que media la transmisión sináptica rápida en el sistema nervioso central.

Ataxia: término utilizado para describir anomalías en la coordinación del movimiento; es un trastorno caracterizado por errores en la velocidad, rango, dirección, duración y fuerza de la actividad motora.

Atonía: Disminución o falta del tono muscular y de tensión de tejidos contractiles, como por ejemplo “atonía digestiva”; que tiene signos de evacuación frecuente de heces acuosas, provocando escasa absorción de agua y elementos nutrientes. Puede ir o no acompañada de dolor, debilidad, náuseas, vómitos, espasmos abdominales, fiebre o pérdida de apetito.

Axón: protuberancia de la neurona que se extiende desde el soma y transmite información del cuerpo de la célula hacia los botones terminales. A lo largo del axón se transportan compuestos como los neurotransmisores, y también se propagan los impulsos nerviosos.

Benzodiacepinas: fármacos sintéticos ansiolíticos cuyo núcleo común es el anillo benzodiacepínico, ejercen su acción sobre receptores específicos localizados a nivel del SNC. Incrementan la actividad GABAérgica, inhiben la actividad cerebral y producen un efecto de somnolencia y calma.

Cianosis: Coloración azulada de la piel y de las mucosas debida a la una alteración que impide la saturación de oxígeno a cualquier nivel del cuerpo, indica la presencia de sangre desaturada en

todo el torrente sanguíneo; de allí la coloración azulada que se acentúa donde hay mayor número de capilares.

Crisis tónicas: en este tipo de crisis, después de una pérdida repentina de la consciencia, los músculos de todo el cuerpo se contraen y sufren una hiperextensión brusca. El cuerpo presenta rigidez.

Crisis tónico-clónicas: la persona cae al suelo y el cuerpo presenta rigidez (fase tónica) y se producen sacudidas rítmicas de brazos y piernas. Estas crisis también pueden provocar mordedura de lengua, labios morados, salida de espuma por la boca y relajación de esfínteres.

Despolarización: proceso electrofisiológico mediante el que se neutraliza la polarización de una célula, habitualmente muscular o nerviosa, que generalmente da lugar a un potencial de acción y a una excitación de la célula.

Diplopía: alteración de la percepción de las imágenes en forma de visión doble. Puede ser mono o binocular.

Espiga: se produce al alcanzar el potencial de umbral por una despolarización rápida en la membrana de la neurona que emite la espiga. Al finalizar la espiga, el potencial de membrana vuelve rápidamente a su estado de reposo.

GABA: principal neurotransmisor inhibitorio, se sintetiza casi exclusivamente a partir de glutamato. Reduce la excitabilidad neuronal por activación de sus receptores.

Glía: Conjunto de células que acompañan a las neuronas en el sistema nervioso central y periférico. También son llamadas "neuroglía".

Glutamato: principal neurotransmisor excitatorio, se sintetiza a partir de glutamina. Su liberación excesiva puede producir daño neuronal.

Hiperpolarización: es un cambio en el potencial de membrana, éste se vuelve más negativo en un punto particular en la membrana de la neurona.

Homeostasis: Conjunto de fenómenos de autorregulación, que conducen al mantenimiento de la constancia en la composición y propiedades del medio interno de un organismo.

Neurotransmisor: sustancias químicas que funcionan como mensajeros que pueden excitar o inhibir a la neurona que recibe la información a través de la unión a receptores específicos. Se encuentran almacenados en vesículas del botón sináptico de la neurona que libera el contenido al exterior en respuesta a la estimulación.

Paroxístico: se refiere a eventos que se presentan de forma brusca o intermitente, con normalidad o sin alguna causa aparente. De inicio y final repentino.

Potencial de acción: proceso fisiológico que se da en la membrana de las neuronas, con el fin de transmitir información y emitir una respuesta a un estímulo. Está caracterizado por la entrada de sodio al interior de la célula, y la posterior salida del potasio.

Receptor: complejo proteínico ubicado en distintas regiones de la membrana celular, con la que se unen los neurotransmisores para iniciar la comunicación de una señal entre neuronas.

Repolarización: restauración de la diferencia de carga entre el interior y el exterior de la membrana celular tras la despolarización.

Anexo 2: Perfil cromatográfico de *Aloysia triphylla* (HPLC).

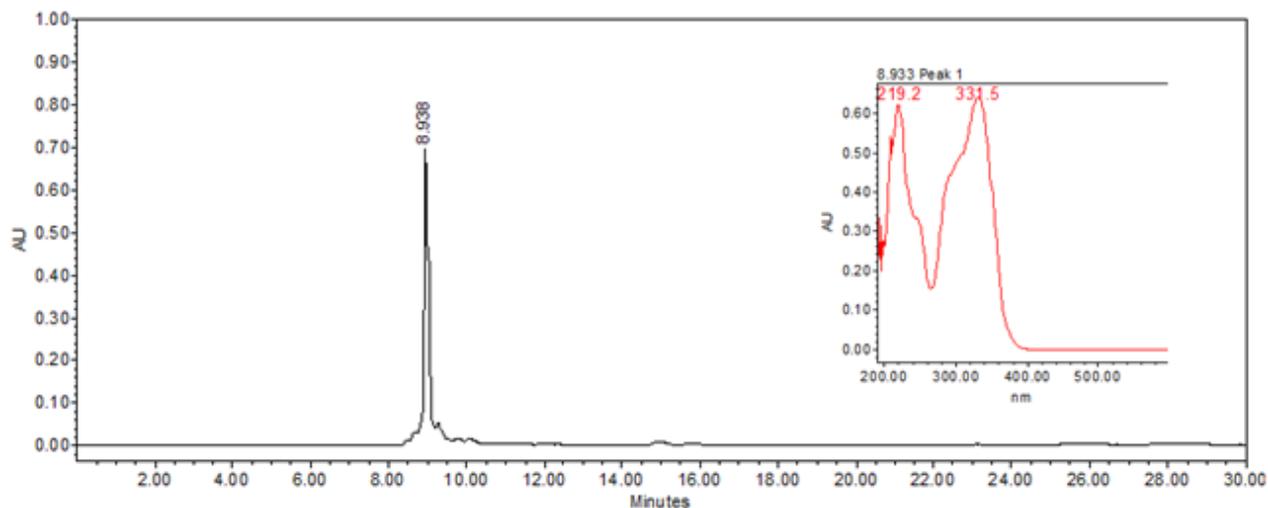


Figura 22. Perfil cromatográfico del extracto metanólico de *Aloysia triphylla* (AtMet); observado a 330 nm.

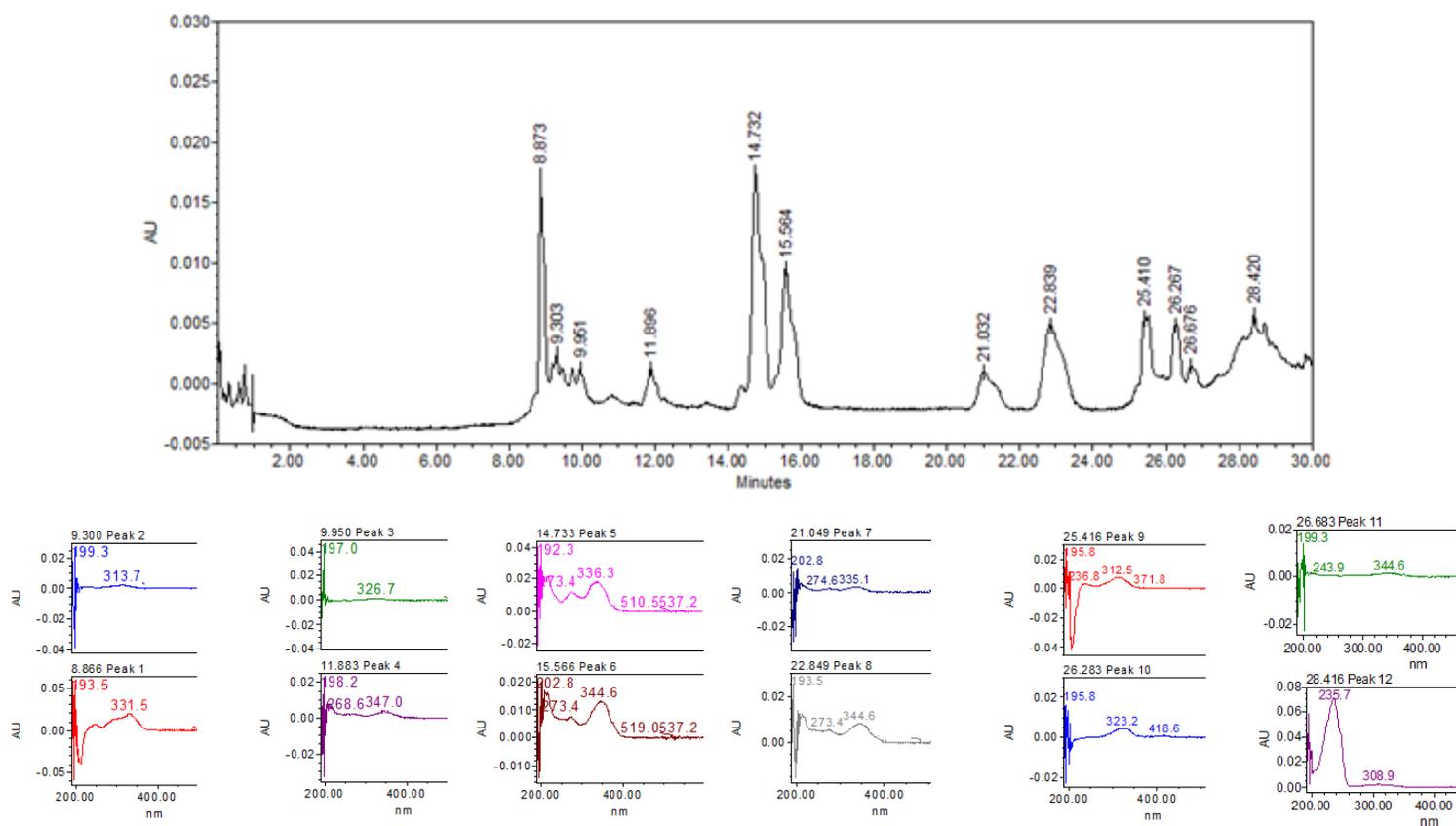


Figura 23. Perfil cromatográfico del extracto de acetato de etilo de *Aloysia triphylla* (AtAcEt); observado a 330 nm.

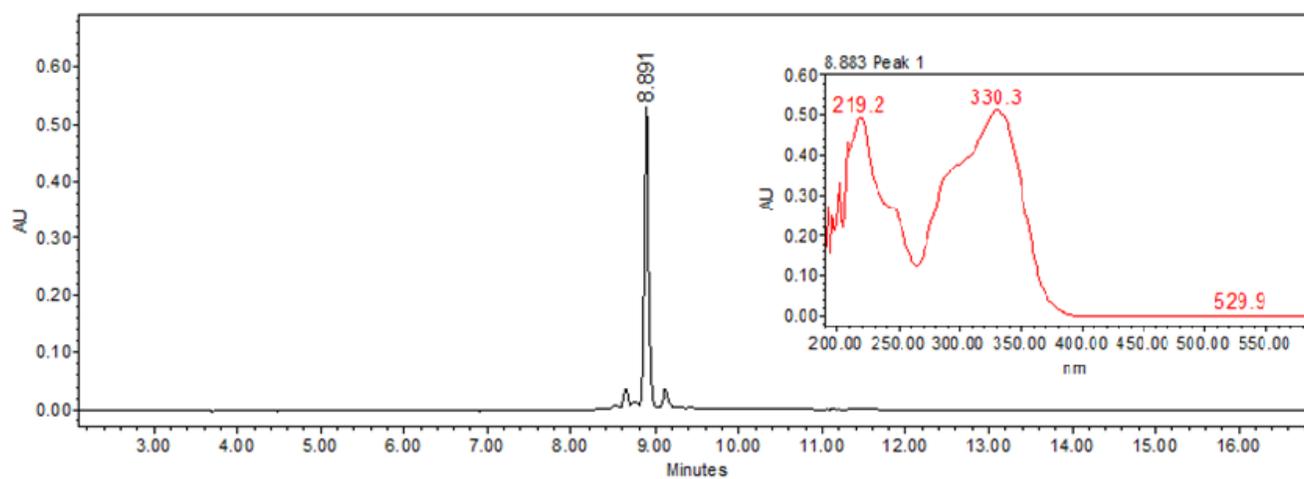


Figura 24. Perfil cromatográfico de AtMetF4-2 de *Aloysia triphylla*; observado a 330 nm.

Anexo 3: Resultados de cromatografía de Gases-Masas.

Area Percent Report

Data File : C:\MSDCHEM\2\DATA\017-LGC.D Vial: 96
 Acq On : 8 Nov 2022 10:01 Operator: M.G.M
 Sample : HR7 Inst : Instrumen
 Misc : Multiplr: 1.00

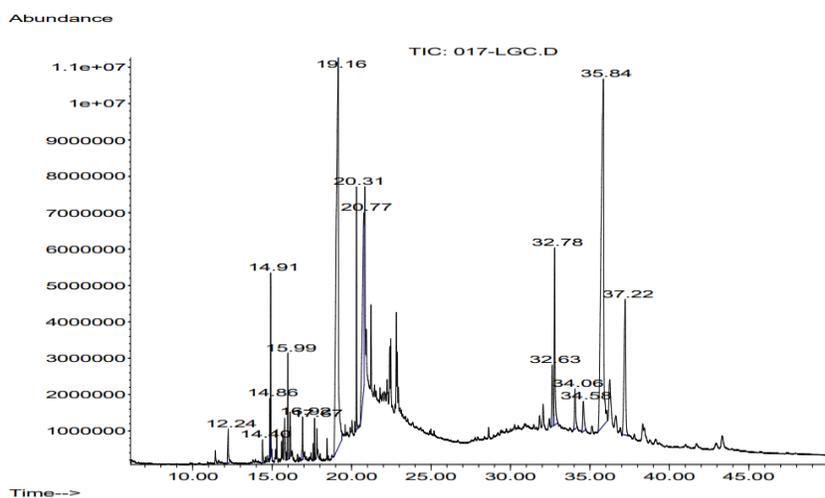
Sample Amount: 0.00

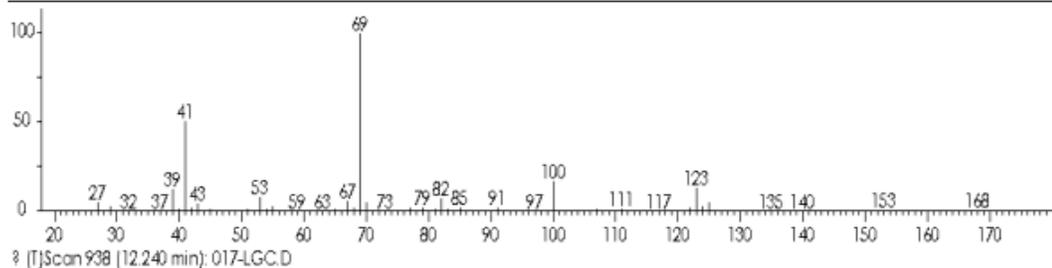
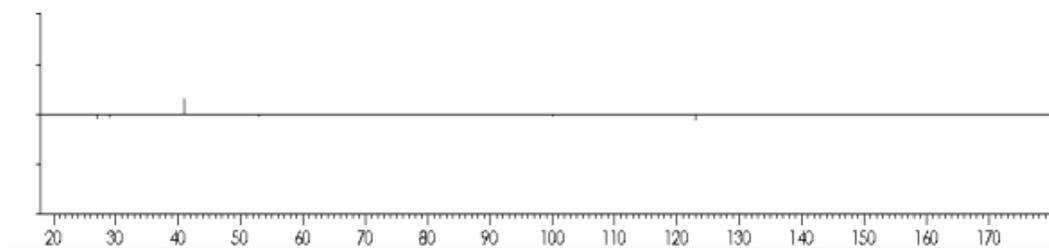
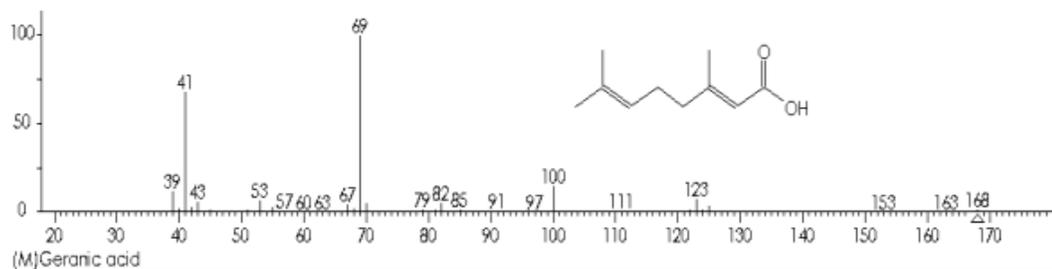
MS Integration Params: autoint1.e

Signal : TIC

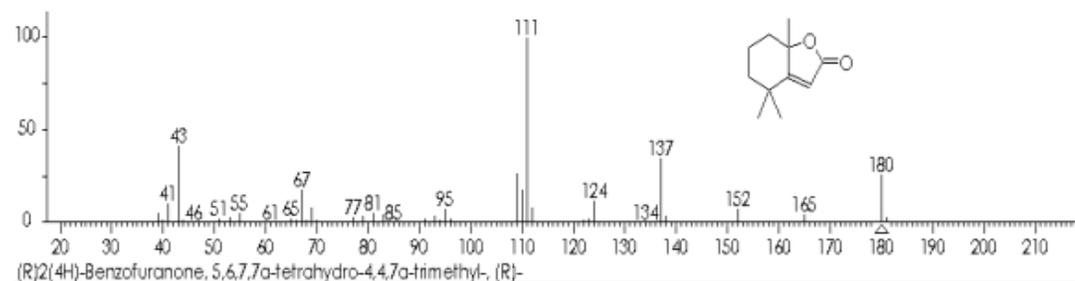
peak #	R.T. min	first scan	max last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	12.240	925	938	954 M	946806	31450395	2.83%	0.884%
2	14.394	1260	1266	1279 M	657680	16739558	1.51%	0.470%
3	14.861	1330	1337	1340 BV	1674205	28718013	2.58%	0.807%
4	14.913	1340	1345	1353 VV	4968055	89448887	8.04%	2.513%
5	15.991	1502	1509	1519 PB	2917972	54599387	4.91%	1.534%
6	16.917	1639	1650	1657 M3	1180518	30069572	2.70%	0.845%
7	17.666	1758	1764	1769 M	1189824	18327912	1.65%	0.515%
8	19.163	1950	1992	2026 M2	11109598	1036556090	93.20%	29.127%
9	20.313	2157	2167	2181 BB	6586939	126637967	11.39%	3.558%
10	20.766	2203	2236	2240 M4	4860548	374808743	33.70%	10.532%
11	32.629	4027	4042	4055 BV	1676131	80149347	7.21%	2.252%
12	32.780	4055	4065	4096 VB	4826634	188351762	16.94%	5.293%
13	34.061	4245	4260	4280 M3	1104531	56639508	5.09%	1.592%
14	34.580	4325	4339	4360 M6	823633	50953648	4.58%	1.432%
15	35.841	4474	4531	4574 BV 2	9527216	1112145197	100.00%	31.251%
16	37.214	4705	4740	4771 BB 2	3713574	263191319	23.67%	7.396%

Sum of corrected areas: 3558787304

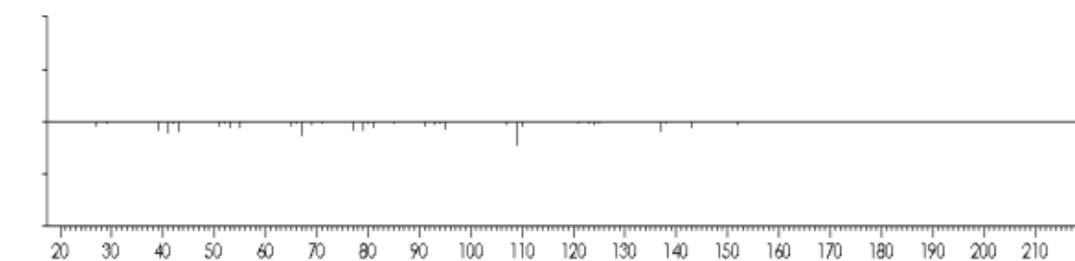




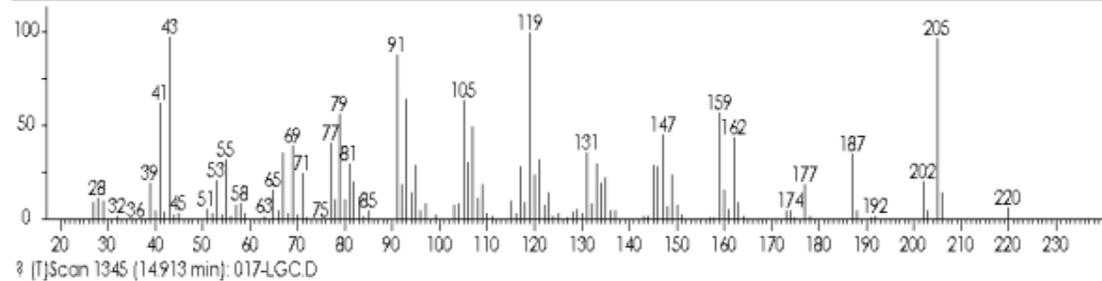
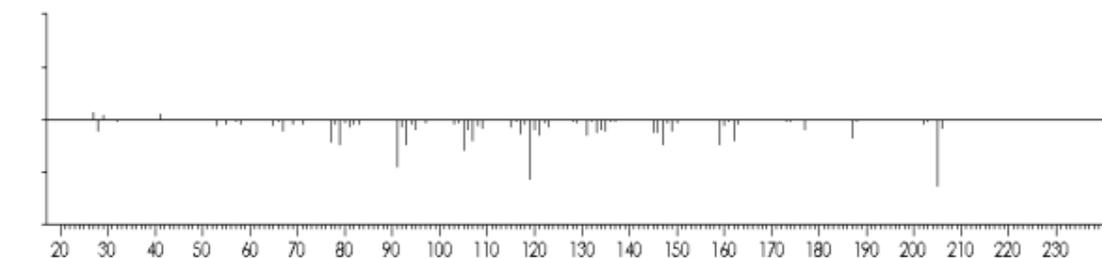
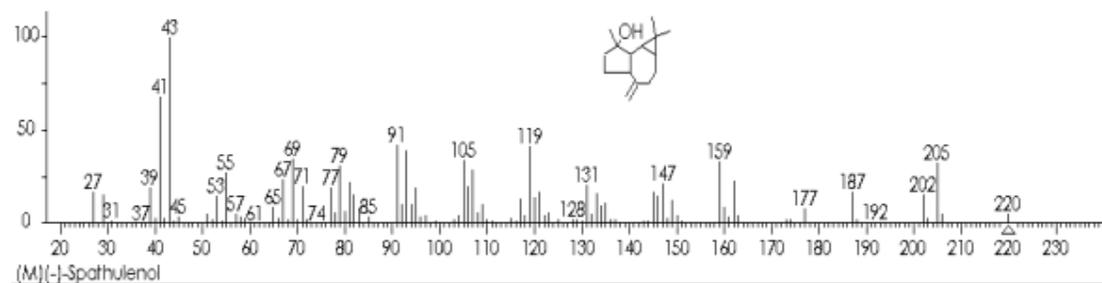
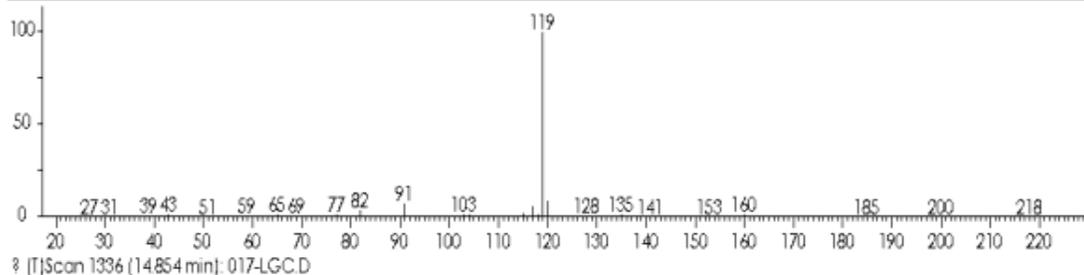
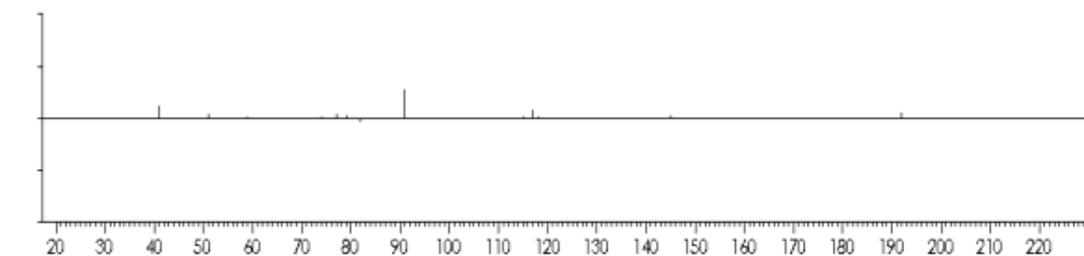
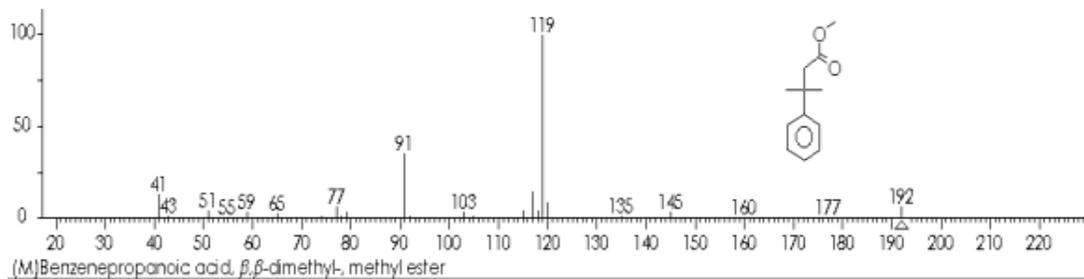
? [T]Scan 938 [12.240 min]: 017-LGC.D

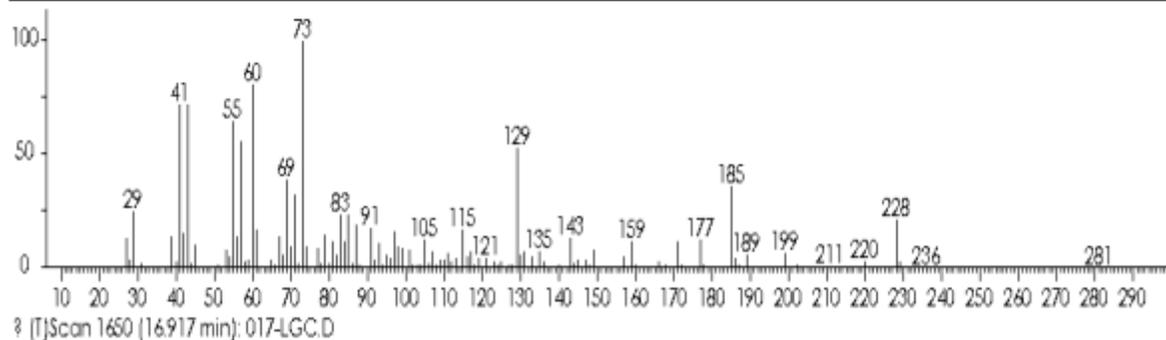
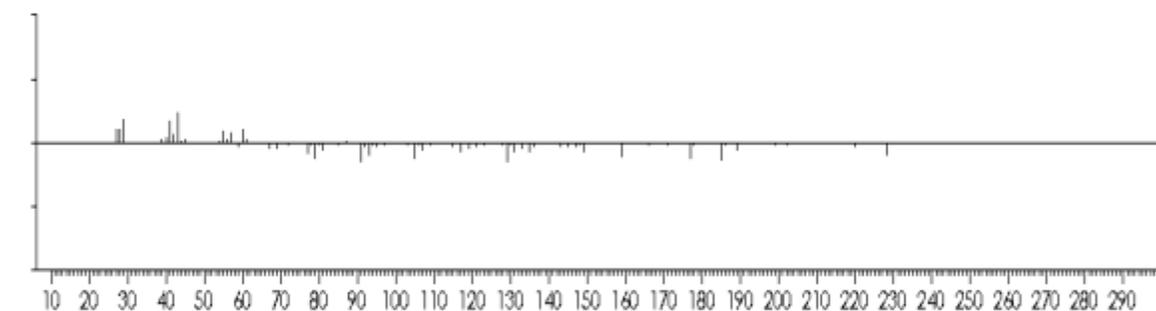
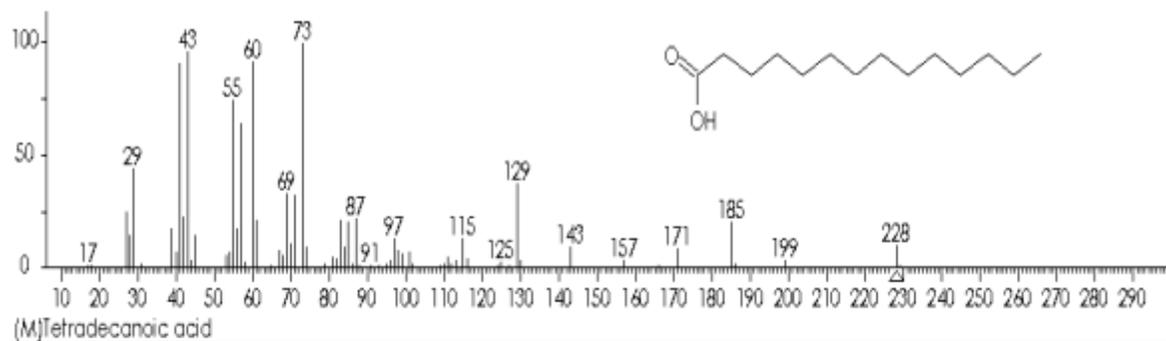
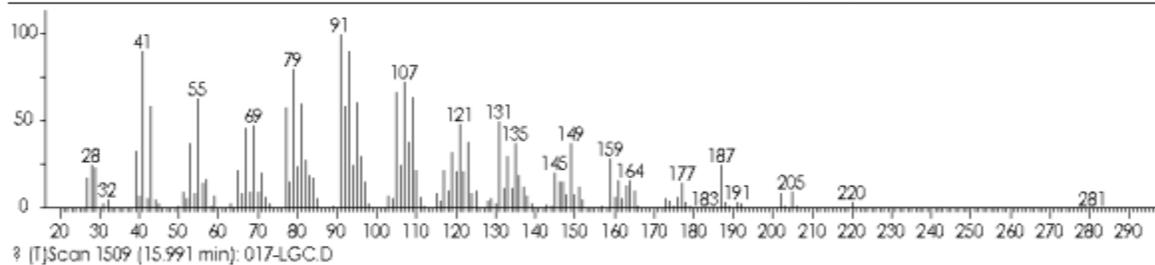
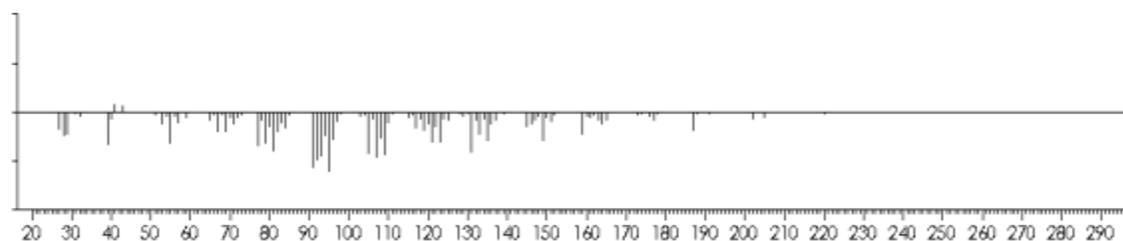
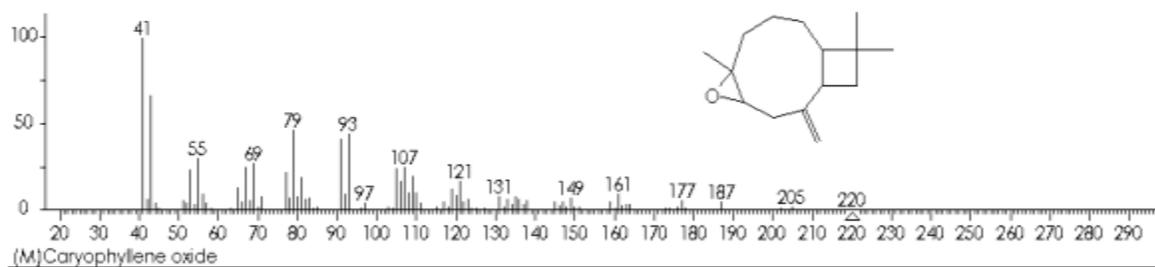


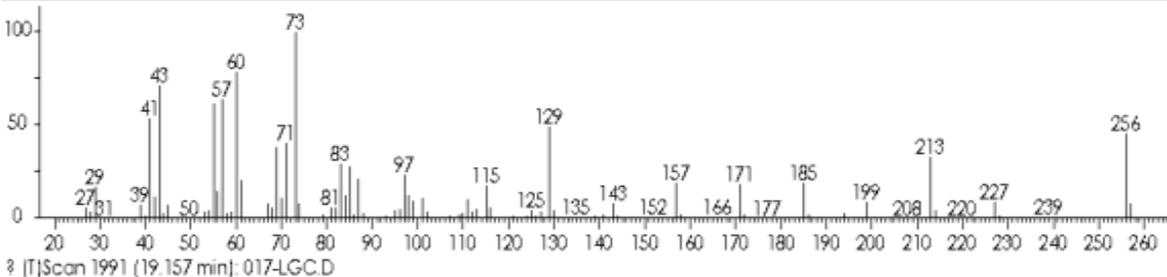
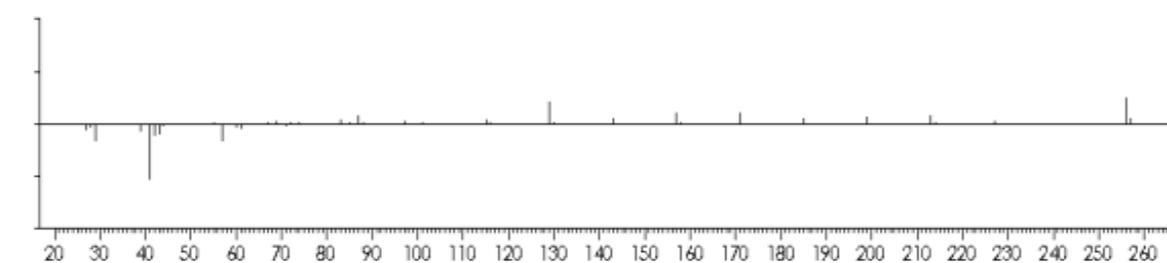
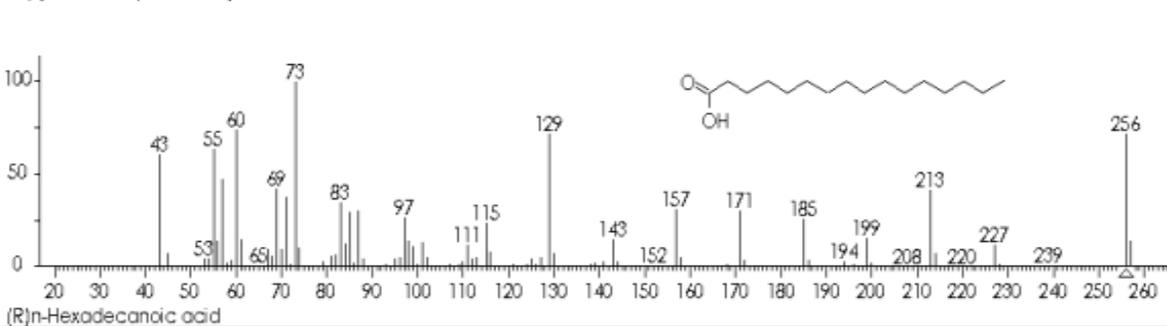
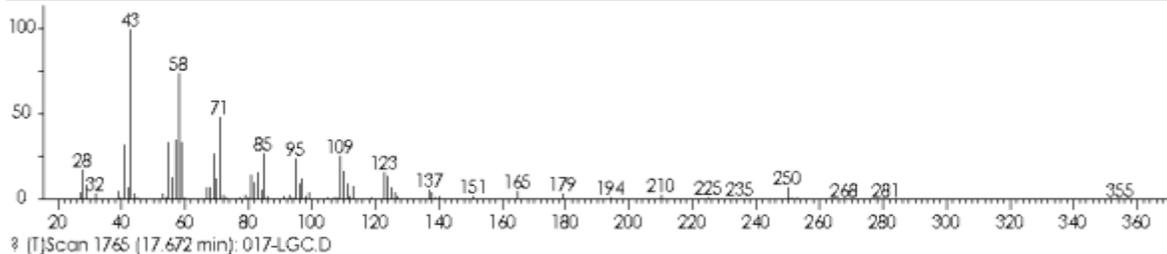
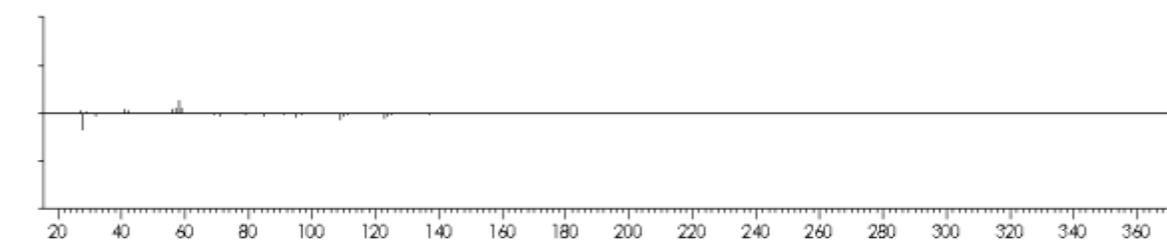
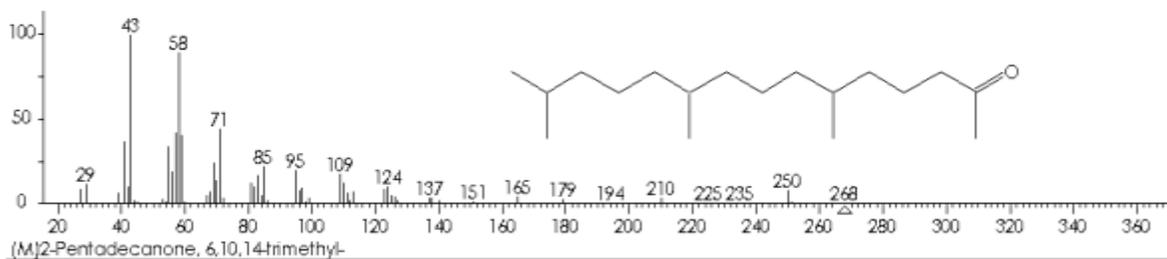
(R)-[2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-, (R)-]

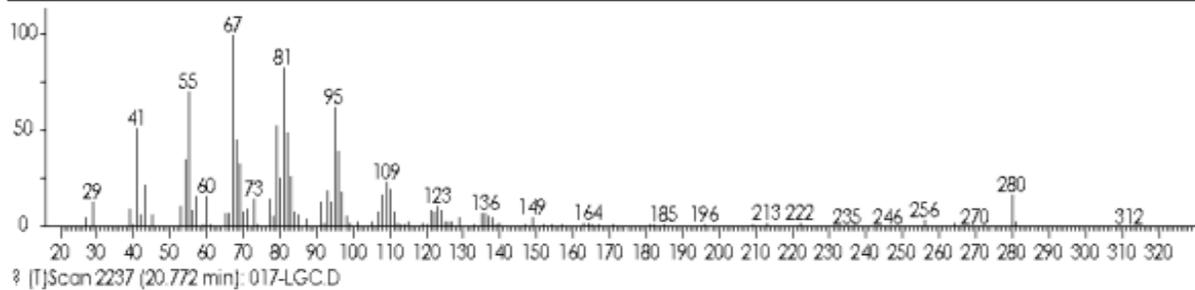
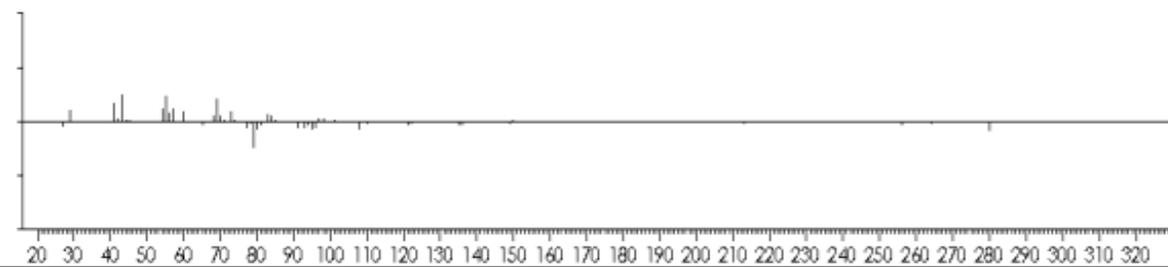
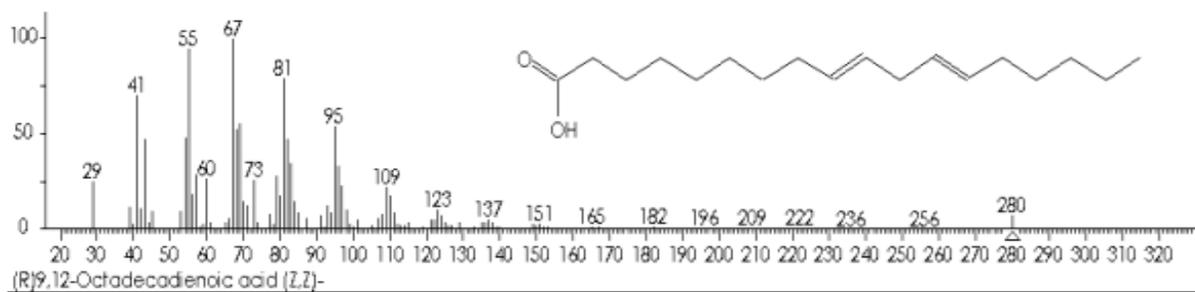
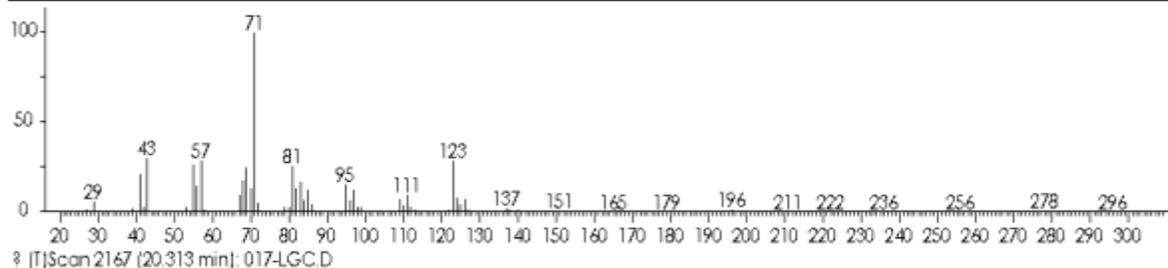
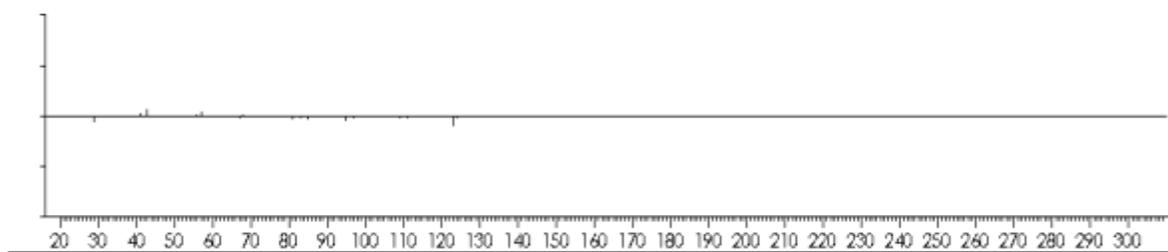
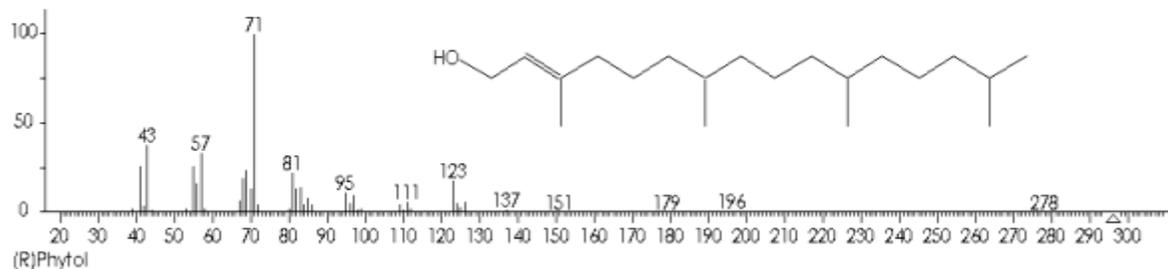


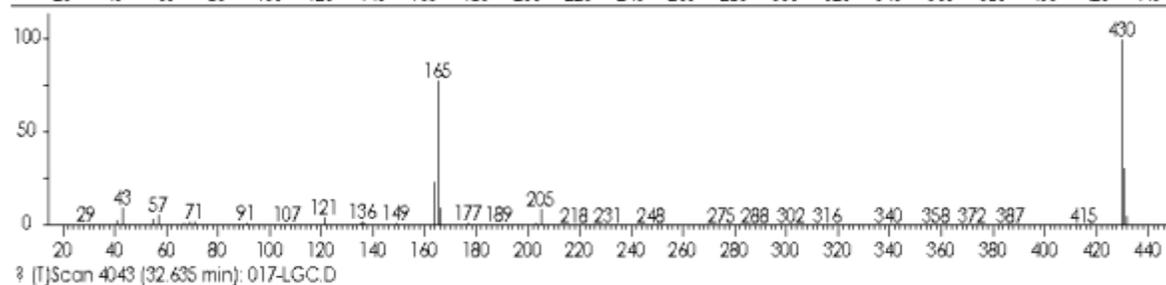
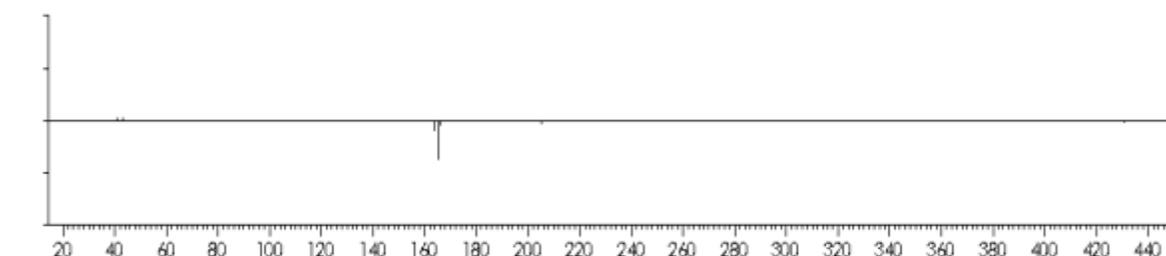
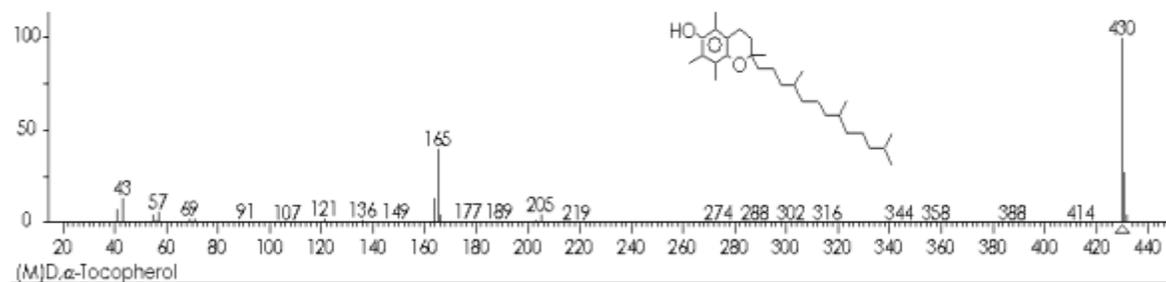
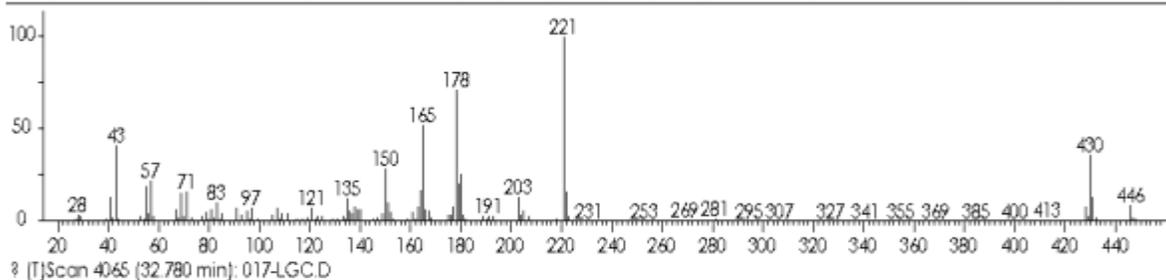
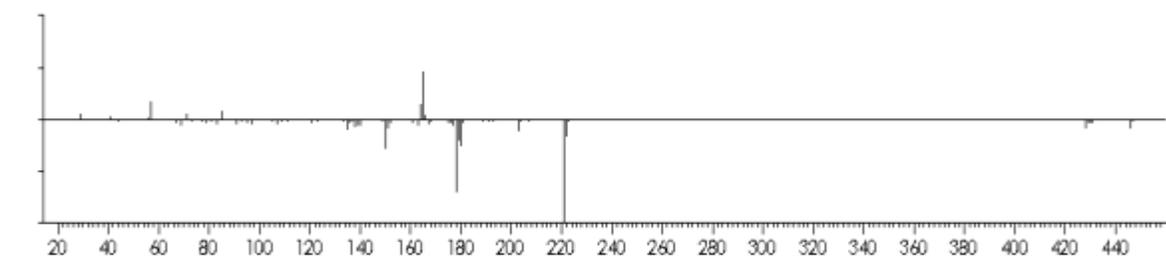
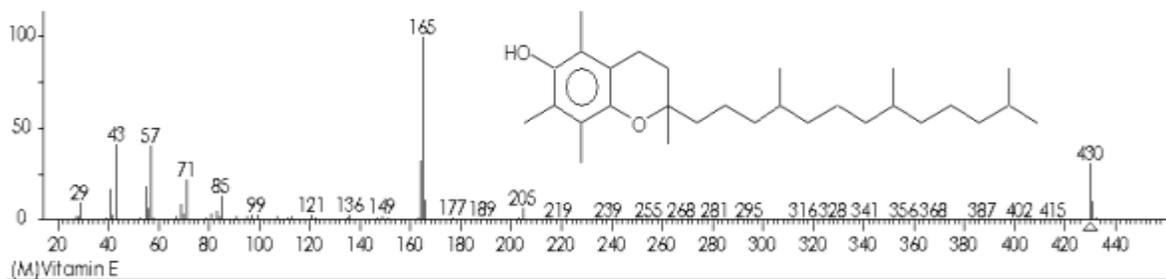
? [T]Scan 1267 [14.401 min]: 017-LGC.D

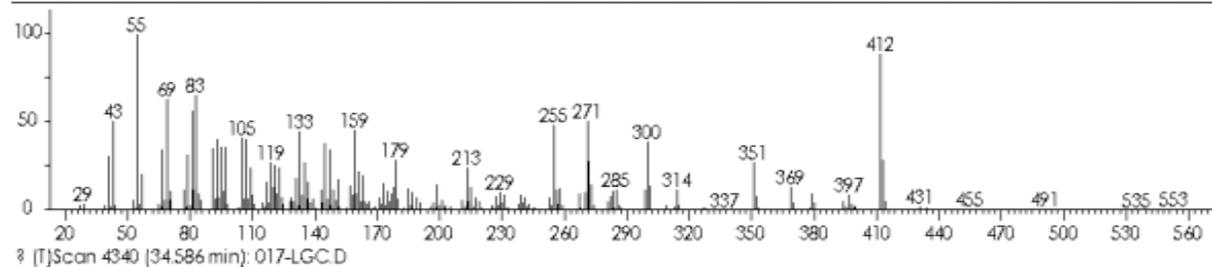
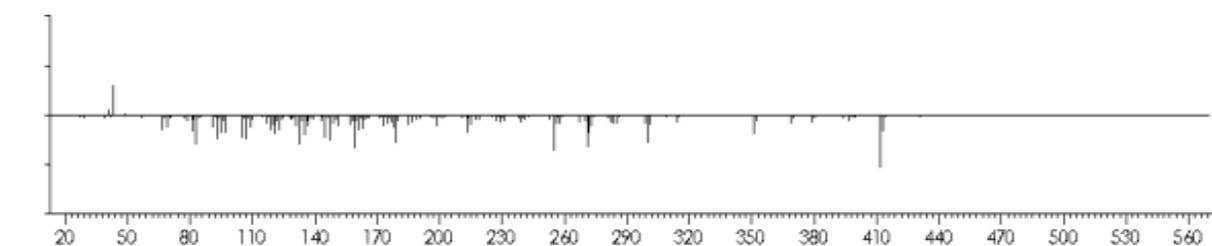
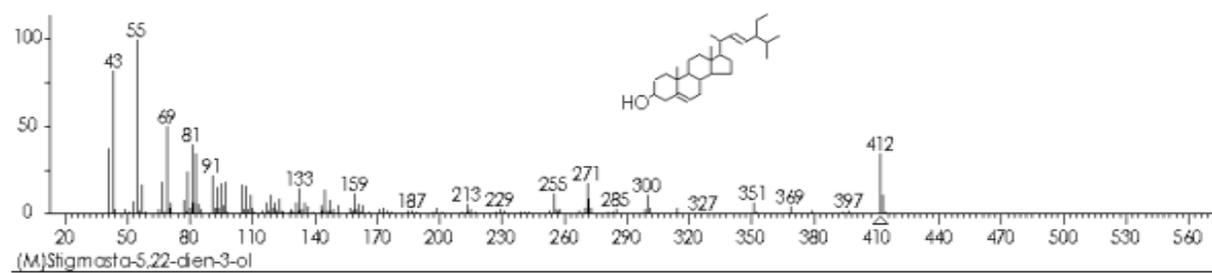
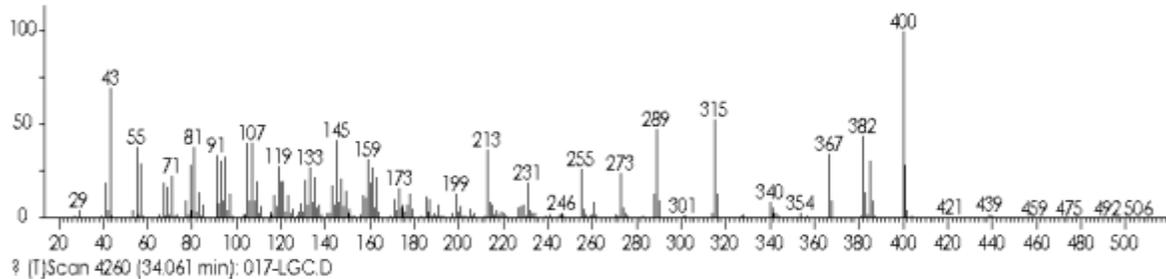
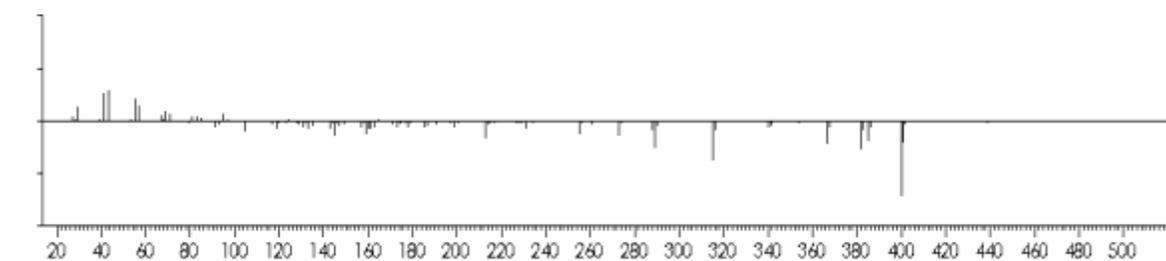
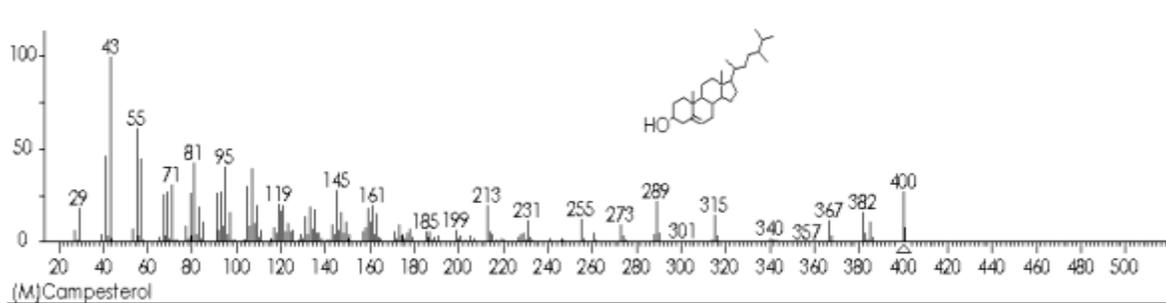


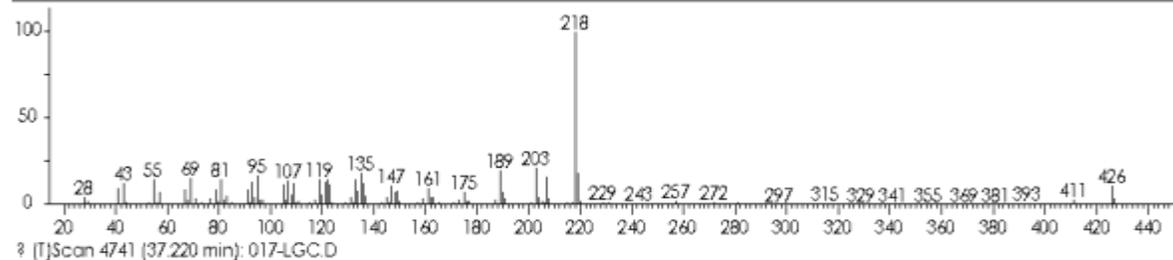
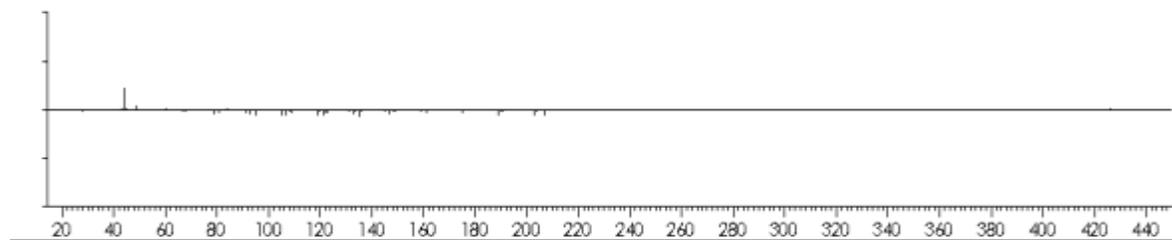
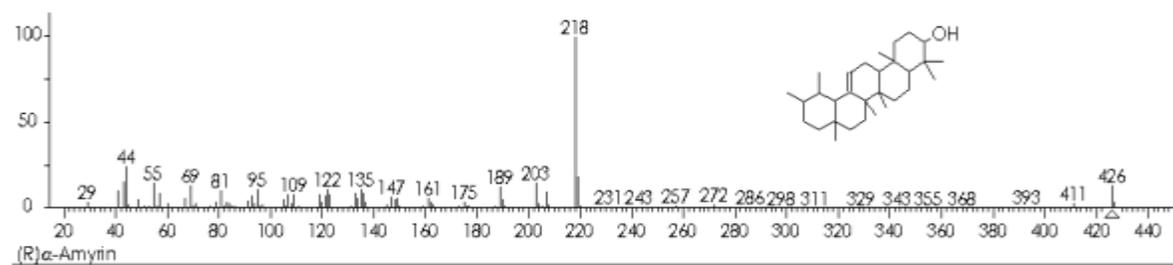
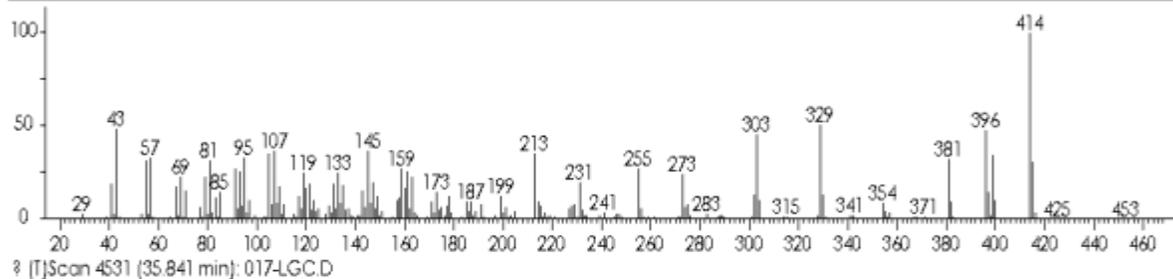
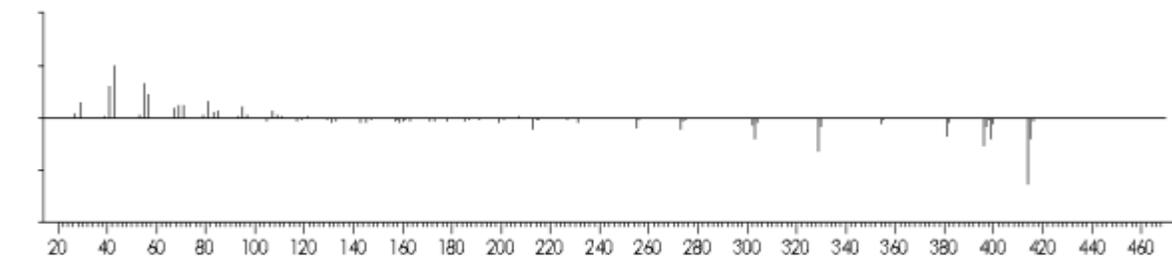
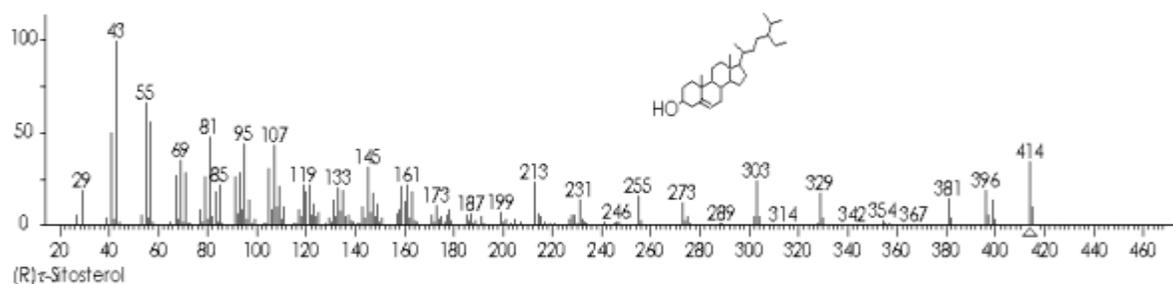




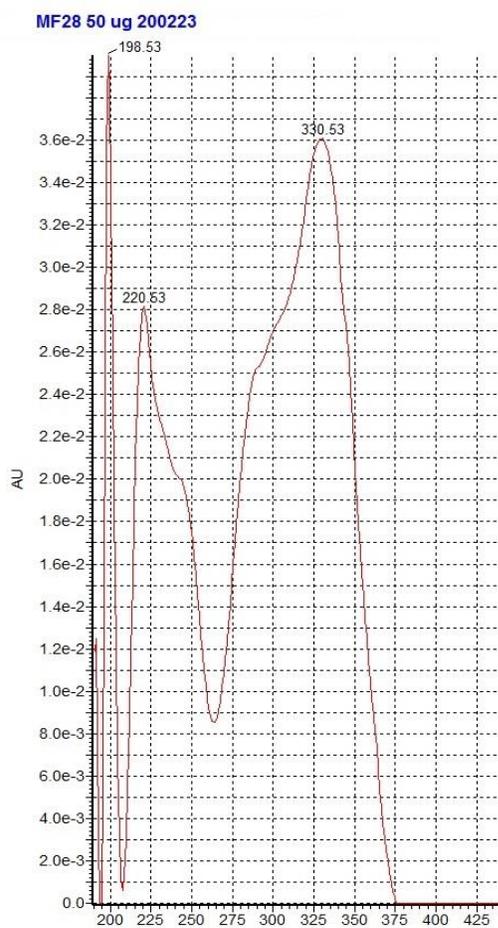
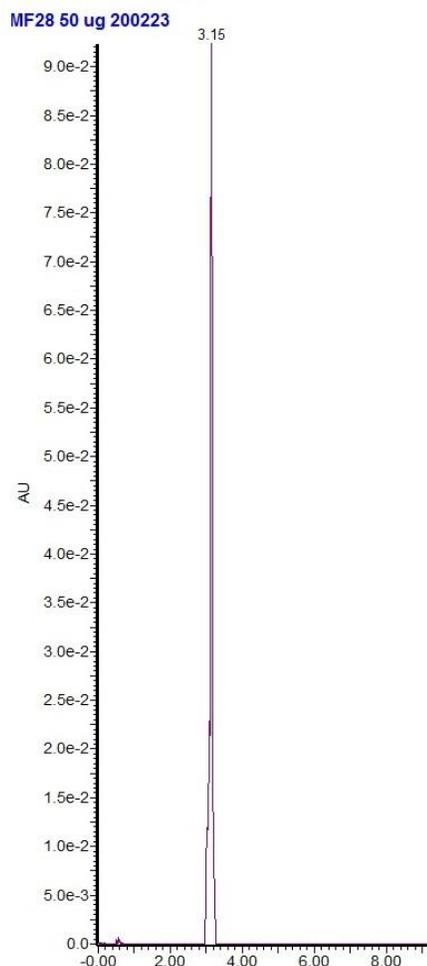
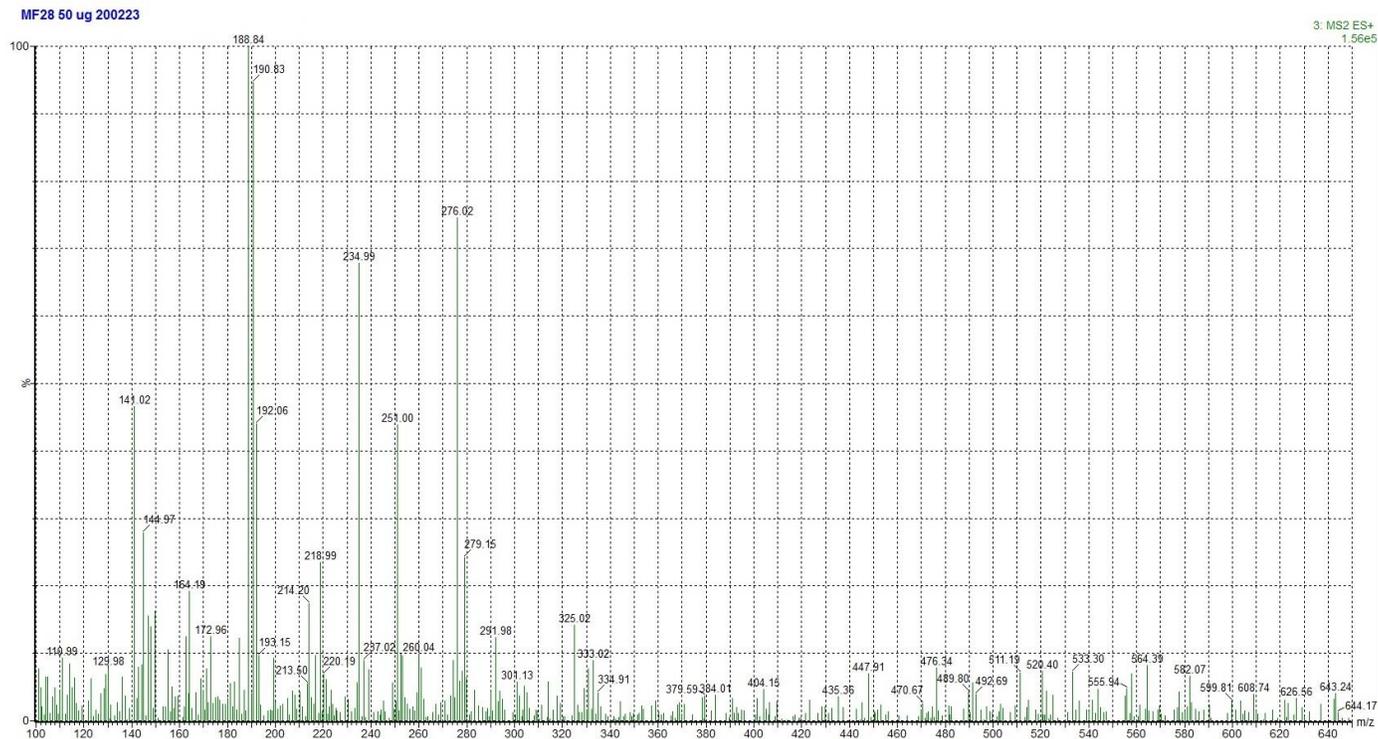








Anexo 4: Resultados de cromatografía acoplada a Masas.





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología

Programa Educativo de Calidad *Acreditado* por el CACEB 2018-2023



FACULTAD
DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

Cuernavaca, Morelos a 22 de noviembre de 2023

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **C. STEFANI MORALES CARRION**, con el título del trabajo: **“Efecto de *Aloysia triphylla* sobre convulsiones inducidas químicamente”**. En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis Profesional por Etapas como lo marca el artículo 26° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: DR. JESÚS ENRIQUE JIMÉNEZ FERRER

SECRETARIO: DRA. VERÓNICA OBREGÓN BARBOZA

VOCAL: DRA. MARIBEL LUCILA HERRERA RUÍZ

SUPLENTE: DR. ALEXANDRE TOSHIRRICO CARDOSO TAKETA

SUPLENTE: DR. MANASES GONZÁLEZ CORTAZAR



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

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

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

Sello electrónico

MARIBEL LUCILA HERRERA RUIZ | Fecha:2023-11-22 18:59:55 | Firmante

AaFuWaCNn11UjBR/9YfRPaSjqr8UAoldJESlVRJqTqNh28uQd6NrXSQaNaQsrx0b06m8gYmOoUWF6pYhd9ZrAkcAfuDCx+eelQKzM2DQa0Gj+ZBtWDIiHMGgwa7WpOgvrCI8T E/akmQMUa3yZRVAkAdHBWZ2y4FqEJICJy8pyY2mtvncYZMiCkUSwY16Ms0XafzdCp5a+kML113YfDQrRfzKOYnuQG3aRhlly4/cuY/j0zQUBenFucHUHivizplUw2ItqtVKhE84R 6eyX1hC+jywtl/u3hxWYnlyUJHXjRBoE20fmdNAFWZz8Pv8j/PWJake8kf8lNXKXCelBelg==

ALEXANDRE TOSHIRICO CARDOSO TAKETA | Fecha:2023-11-22 21:06:56 | Firmante

M+twzHLaoWkvrX/C7+N7YH+HnxvtV3IMFvhUTuul6juwXjf1PARIxzLID/qERE3YGvX2y3QXwLm56X1WzeWhFVuoADrSe6FAuoNj9cqaMV5ikxeHPAQjMfTtrtdHwrNelHMbECyF t83dcPU67b9mOYa4k7Laa7vR7J27FjiiMSWzYbzYoaeZt2zWl6O+C4tXdF115JOTowUQUyCY/Y4LQP/Z6F2j8uWf0lcmnMcv1rY1Mfhm1YrIqGopD50HmVeycl9OqndR1hYSLOQN Nk0jsr4h8ZK7imp8Sd1vDu2vrNXoe0SnU5nNUylwlb+7VV94GumCSRgPgvdQlro6Elw==

MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR | Fecha:2023-11-23 08:20:20 | Firmante

TO8ZNNVuiTpsD/18k1F5fpoRLBUtspVhqr3jl7km3k+NVBYtxMnu8p20FyEjJp87kH6viCCirf7tgmVoVuzQNTHCsUg9/K+mGouMSIN6O4QXzeCyFNQ5l/rxW/Tk3hYHpdM9V89R WQhuNlwV28kSocWmRGsATiFi9Lf3CP/6kHO2CfiO2gwxpOh4Y6xEV+XydlY5WYGmclipPQJSL75RK0lwwBgN4Ddb+176jtpydOv+CDKBQ5R3kMcv3eCPK2rVOWVDwuv StyVVG8VikI54Jg3mmy2gc3dqj7YmicmacsIPcAW1XPVY/LjWpiQzF5V//vSLxk4qWMIlfPQw==

JESUS ENRIQUE JIMENEZ FERRER | Fecha:2023-11-23 08:42:28 | Firmante

WZtw60Vh+Equmuoqxnt41PMTe2ysdafaUG1X4g/LqbuC7U09sNrsAX9qIsf2ily14a87Um8kXQFsjBiJB5hHCZ2DZ1sEqXGaAXvj+liiNYhRQroVqpL5BQN5kuacpo8aqs0KPVF6 Xjgq497ZQc20yg0wmC2RdWaTGIp5OPTUALZDmyliiVUFqRkM/pe2vS8RDSd9D/VdDv6udwByoHPEGnjeOnS63surdwQJV4j1me65FVTudN+YgMCRp2lyL/47TePU/e0k6Bq6x6J DalC9krfA6j41YODvHr6OVGL+Khfi0CzV/qUpwQFUeqyesObNceD0ve1Dvy7uxokPHIQ==

VERONICA OBREGON BARBOZA | Fecha:2023-11-23 10:57:41 | Firmante

H6lQy51bQhQlyV+bb3pgtSq/c659GU3ZwInOeYbD4JyiqOAK228saAf1JV9PTY8R/YC5g5OKKEU1Pw7ax69dig4TDdxHLMwYyl7uylqWhQF76X5ShjOCr8fr8z2tap7mNTwTAKm cNC53d0uLrHGWHFYgMCPq935ZnPmnHfwy9ysWFCEUN8GzFM5rKl58Nl8q1VGv1o7eKgRMpC8Uype1YwA2CvDUQ0l5yUbhiatsOJaYWhZBlpE2KNsN/ZxCjVLUxBk3WKVv ZysqL0juH9FeF1PBotc+3q/wsd7SIRMtQ+MGnK+8LI/BHDYucm2UcYbLug62xWQ1Bga1Ee4Q==

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



9atBoUYE6

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/1sLXR99ixVsgeqf6t63yV2ptRRX5Dxo>

