



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN



**Evaluación del efecto del extracto metanólico de las partes
aéreas de *Heliocarpus terebinthinaceus* sobre el sistema
nervioso en modelos *in vivo***

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O**

**P R E S E N T A:
DEYANEIRA GUADARRAMA BELTRÁN**

Director de tesis:

Dr. Dante Avilés Montes

Codirector:

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez

CUERNAVACA, MORELOS

mayo 2024

El presente trabajo se realizó en:

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



Bajo la dirección del Dr. Dante Avilés Montes y la
codirección del Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez.

Dedicatoria

A **Dios** por brindarme vida y salud, por bendecirme en todo momento y por permitirme cumplir una meta más en mi vida.

A mis padres **Rafael Guadarrama Marín y Azucena Beltrán Sánchez**, por todo su apoyo, amor y comprensión. Por creer en mí en todo momento, por motivarme a ser mejor persona día con día, por no dejarme sola en ningún momento, por brindarme todos los medios necesarios para poder concluir mi carrera. Gracias, porque sin ustedes nada de esto hubiera sido posible. Los amo más allá de lo que pueda expresar.

A mis herman@s **Leslie, Dilan y Liam** por todo su amor, cariño, apoyo y comprensión, por estar ahí cuando más lo necesite y por ser mi más grande motivación. Los amo con todo mí ser.

A mis amig@s, en especial a **Ixchel, Dayanara, Sinaí, Fernanda, Didier, Hosvaldo y Eduardo**, gracias, por su motivación, las buenas charlas, por compartir su conocimiento y por ser tan buenos amigos, por todo su cariño, apoyo y comprensión, gracias por hacer mi vida universitaria más amena. Los amo.

A mis ti@s **Mayra, Aleida, Lucí, Vicky, Lorena, Jaime, Álvaro, Cesar y Eduardo** por creer en mí en todo momento, por todo su apoyo, cariño y motivación. Los quiero mucho.

A mis abuelos, **Alejandra, José, Marta y Donato**, por motivarme a seguir mis sueños, por motivarme a ser mejor persona, por sus consejos, pero, sobre todo, por todo su amor. Los quiero mucho.

Agradecimientos

Al **Dr. Dante Avilés Montes**, por brindarme la oportunidad de trabajar bajo su tutela, por su valioso tiempo, su gran paciencia, por todas sus enseñanzas, y sus buenos consejos, por su apoyo en momentos difíciles, por su impecable forma de transmitir sus conocimientos, por su orientación y por su motivación en todo momento. Dr. Dante, muchísimas gracias.

Al **Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez**, por brindarme de su tiempo durante todo el proyecto, su gran conocimiento, su paciencia, su apoyo en momentos difíciles, por sus consejos, por su motivación en todo momento. Dr. David, muchísimas gracias

A mi comité sinodal; Dra. **Nayeli Monterrosas Brisson**, Dra. **Adriana Valladares Méndez**, Dra. **María Luisa Villareal**, Dr. **Manasés González Cortázar**, por brindarme de su tiempo durante todo el proyecto, por sus aportaciones, por sus sugerencias y por brindarme de su conocimiento. Muchas gracias.

Al **Dr. Jorge Alberto Cortes Morales** por brindarme de su conocimiento y su experiencia cuando se necesitó de su apoyo, por su disponibilidad y por su amabilidad. Dr. Jorge, Muchas gracias.

A la **Mtra. Denisse Acosta Peñaloza**, por sus buenos consejos en cuanto mi proyecto de investigación, por ser una persona muy amable, paciente y dedicada, gracias por su valioso tiempo y toda la motivación que me brindo en su momento.

A mi compañera de Licenciatura **María José Romero**, por brindarme su apoyo en todo el proyecto, y sobre todo por su amistad y confianza. Majo, muchísimas gracias.

A mis amigas de toda la vida **Lisbeth Salgado** y **Guadalupe Ávila**, gracias por todo su apoyo y motivación, gracias por su tiempo y consejos, pero sobre todo gracias por su amistad. Las amo.

A **Luis Alberto**, gracias por absolutamente todo. Te amo.

A la **Universidad Autónoma del Estado de Morelos** por prepararme académicamente y haberme formado como un profesional de Licenciatura en Biología.

Al **Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación**, por abrirme las puertas para llevar a cabo este proyecto de investigación en cuestiones metodológicas y por ser parte de mi formación académica.

Índice

Abreviaturas

Índice de figuras

Índice de tablas

RESUMEN

Contenido

1.	Introducción	1
2.	Antecedentes	3
2.1	Enfermedades mentales	3
2.1.1	Depresión	4
2.1.1.1	Clasificación	4
2.1.1.2	Prevalencia	6
2.1.1.3	Fisiopatología	7
2.1.2	Ansiedad	10
2.1.2.1	Clasificación	11
2.1.2.2	Fisiopatología	12
2.1.2.3	Tratamiento	13
2.1.3	Epilepsia	14
2.1.3.1	Clasificación	15
2.1.3.2	Fisiopatología	16
2.1.3.3	Efectos secundarios no deseados	18
2.2	Sedación y estado hipnótico	19
2.3	Modelos Farmacológicos	20
2.3.1	Nado forzado (NF)	20
2.3.2	Laberinto Elevado en forma de Cruz (LEC)	21
2.3.3	Campo abierto (CA)	21
2.3.4	Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital	22
2.3.5	Convulsiones inducidas con pentilentetrazol	22
2.4	Generalidades de la Familia <i>Tiliaceae</i> (sinónimo <i>Malvaceae</i>)	23
2.4.1	<i>Helioctopus terebinthinaceus</i>	23

2.4.2	Clasificación taxonómica	23
2.4.3	Usos etnomédicos	24
2.4.4	Farmacología y fitoquímica	25
3.	Justificación	27
4.	Pregunta de investigación	28
5.	Hipótesis	28
6.	Objetivos	28
6.1	Objetivo general	28
6.1.1	Objetivos particulares	28
7.	Material y métodos	29
7.1	Diseño experimental	29
7.1.1	General	30
7.2	Colecta del material vegetal	30
7.3	Obtención del extracto metanólico	31
9.5	Fraccionamiento químico de HtEM obtenido de <i>Heliocarpus terebinthinaceus</i>	33
	Tabla 5. Fraccionamiento químico de HtEM de <i>Heliocarpus terebinthinaceus</i> .	34
7.4	Análisis por HPLC	34
7.5	Animales de experimentación	35
8.	Pruebas farmacológicas	35
8.1	Nado forzado (NF)	35
8.2	Laberinto Elevado en forma de cruz (LEC)	36
8.3	Campo abierto (CA)	37
8.4	Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital	37
8.5	Convulsiones inducidas con pentilentetrazol	38
8.6	Tratamientos	39
9.	Resultados	41
9.1	Efecto ansiolítico del extracto metanólico de <i>Heliocarpus terebinthinaceus</i> (HtEM)	41
9.2	Efecto antidepresivo del extracto metanólico de <i>Heliocarpus terebinthinaceus</i> (HtEM)	46
9.3	Efecto sedante hipnótico del extracto metanólico de <i>Heliocarpus terebinthinaceus</i> (HtEM)	47
9.4	Efecto anticonvulsivante del extracto metanólico de <i>Heliocarpus terebinthinaceus</i> (HtEM)	48
9.6	Perfil químico de los extractos de <i>Heliocarpus terebinthinaceus</i>	52
9.7	Perfil químico en CCF del extracto HtEM.	54
9.8	Análisis de HPLC	57

10. Discusión	59
11. Conclusiones	63
12. Perspectivas	63
13. Referencias bibliográficas	64

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	Serotonina
ADP	Adenosín difosfato
BDNF	Factor de crecimiento derivado del cerebro
BZD	Benzodicepinas
CA	Campo abierto
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
cm	Centímetros
CPF	Corteza prefrontal
DA	Dopamina
DM	Depresión mayor
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DZP	Diazepam
ECV	Enfermedades cardiovasculares
ELT	Epilepsia del lóbulo temporal
ENEP	Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica
EPM	Laberinto elevado en forma de cruz
<i>et al.</i>	<i>et alius</i> / y otros
FAC1-2	Fracción orgánica
FAqC2-1	Fracción acuosa
FAqC2-3	Fracción acuosa
FST	Prueba de natación forzada

GABA	Ácido gamma-amino butírico
HtEA	Extracto acetónico de <i>Heliocarpus terebinthinaceus</i>
HtEH	Extracto hexánico de <i>Heliocarpus terebinthinaceus</i>
HtEM	Extracto metanólico de <i>Heliocarpus terebinthinaceus</i>
HPA	Eje hipotálamo-pituitaria-adrenales
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
IFN	Interferón
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IMAO	Inhibidores de la enzima monoamino oxidasa
IMI	Imipramina
<i>i.p.</i>	Vía intraperitoneal
ISRS	Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina
LC	Locus coeruleus
LRC	Laberinto elevado en forma de cruz
LPS	Lipopolisacaridos
MAO-A	Monoamino-oxidasa
mm	Milímetros
MMP	iones 1-metil-4-fenilpiridinio
msnm	metros sobre el nivel del mar
NA	Noradrenalina
NAc	Núcleo accumbens
NF	Nado forzado
NP-PEG	2-amino-etil-difenil-borinato

OFT	Prueba de campo abierto
PET	Tomografía por emisión de positrones
PTZ	Pentilentetrazol
SNC	Sistema nervioso central
SSRIs	Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina
TA	Tiempo de permanencia en brazos abiertos
TC	Tiempo de permanencia en brazos cerrados
TFA	Trifosfato de adenosina
TNF-α	Factor de necrosis tumoral
Trp	Triptófano
TrkB	Receptor de las neurotrofinas BDNF y NT-4/5
TST	Prueba de suspensión de la cola
UV	Radiación ultravioleta
v.o.	Vía oral

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Árbol de Cuahuilagua (*Heliocarpus terebinthaceus*, Tiliaceae).
- Figura 2.** Metodología empleada en el presente estudio
- Figura 3.** Colecta del material vegetal (*H. terebinthaceus*)
- Figura 4.** Secado del material vegetal
- Figura 5.** Molino manual
- Figura 6.** Material vegetal seco (500 g)
- Figura 7.** Maceración EM
- Figura 8.** Destilación con rotavapor
- Figura 9.** Sílice
- Figura 10.** HtEM adsorbido en Sílice
- Figura 11.** Fraccionamiento en columna
- Figura 12.** Grupos experimentales de roedores
- Figura 13.** Prueba Nado Forzado
- Figura 14.** Prueba de laberinto elevado en forma de cruz
- Figura 15.** Prueba de campo abierto
- Figura 16.** Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital
- Figura 17.** Marcaje de los ratones para su posterior agrupación
- Figura 18.** Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthaceus* (DC).
- Figura 19.** Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthaceus* (HtEM) sobre el porcentaje del de las entradas a los brazos abiertos de los ratones CD-1.
- Figura 20** Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthaceus* (DC.) Hochr. (HtEM), sobre el número de estiramiento verticales de los ratones CD-1.
- Figura 21** Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthaceus* (HtEM), sobre el número de cruces en el centro de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de OFT.
- Figura 22** Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthaceus* (HtEM), sobre el número estiramiento verticales de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de OFT.

Figura 23 Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM) sobre el tiempo de inmovilidad de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Nado forzado.

Figura 24 Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. (HtEM) sobre el tiempo de latencia y tiempo de narcosis inducida por el pentobarbital de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital.

Figura 25 Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. (HtEM) sobre el número de convulsiones totales de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Convulsiones inducidas con pentilentetrazol.

Figura 26 Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. (HtEM) sobre el número de convulsiones tónicas de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Convulsiones inducidas con pentilentetrazol.

Figura 27 Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. (HtEM) sobre el número de convulsiones clónicas de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Convulsiones inducidas con pentilentetrazol.

Figura 28 CCF, FN vista en luz UV de los Extractos HtEH, HtEA y HtEM, obtenidos de *Heliocarpus terebinthinaceus* Sistema 7-3 hexano/acetona. A) LUV onda corta 254 nm B) Revelada con reactivo de Komarovsky, LUV Onda corta 254 nm C) LUV onda larga a 365 nm D) Revelada con reactivo de Komarovsky, LUV onda larga 365 nm.

Figura 29 Cromatografía en capa fina FN vista en luz UV de los Extractos HtEH, HtEA y HtEM. Sistema 95-5 Diclorometano/Metanol. A) LUV onda corta 254 nm B) Revelada con reactivo de NP-PEG, LUV Onda corta 254 nm C) LUV onda larga a 365 nm D) Revelada con reactivo de NP-PEG, LUV onda larga 365 nm.

Figura 30 Cromatografía en capa fina FN vista en luz UV de los Extractos HtEA y HtEM. Sistema 95-5 diclorometano/acetona. A) LUV onda larga 365 nm, revelada con reactivo de NP-PEG. C) LUV onda larga a 365 nm, sistema 95-5 diclorometano/acetona, revelada con reactivo de NP-PEG.

Figura 31 Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; fracción 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, Referencia (EM).

Figura 32 Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, Referencia (EM)

Figura 33 Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; fracción 17, 18, 19, 20, 21, 22, 21, 24, Referencia (EM).

Figura 34 Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 17, 18, 19, 20, 21, 22, 21, 24, Referencia (EM).

Figura 35 Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; fracción 17, 18, 19, 20, 21, 22, 21, 24, Referencia (EM).

Figura 36 Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 17, 18, 19, 20, 21, 22, 21, 24, Referencia (EM).

Figura 37 Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; fracción 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, L (lavado), Referencia (EM).

Figura 38 Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, L (lavado), Referencia (EM).

Figura 39 Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM).

Figura 40 Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM)

Figura 41 Placa cromatográfica fase normal revelada con el reactivo Komarovsky (terpenos), orden izquierda- derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM)

Figura 42 Placa cromatográfica fase normal revelada con NP-PEG (flavonoides), bajo luz de onda larga, orden izquierda- derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM)

Figura 43 Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM).

Figura 44 Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM).

Figura 45 Cromatograma de HPLC correspondiente al extracto de metanol de las hojas de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM), mostrando la presencia de los compuestos glucósido de quercetina (Pico A) y verbascósido (pico B).

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Antidepresivos actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos depresivos y sus efectos secundarios

Tabla 2. Ansiolíticos actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos de ansiedad y sus efectos secundarios

Tabla 3. Fármacos utilizados para el tratamiento de personas con trastornos epilépticos.

Tabla 4. Anticonvulsivantes actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos epilépticos y sus efectos secundarios

Tabla 5. Fraccionamiento químico de HtEM de *Heliocarpus terebinthinaceus*.

Tabla 6. Grupos formados y pruebas farmacológicas en las que fueron evaluados

Tabla 7. Efecto anticonvulsivante del extracto metanólico de *H. terebinthinaceus* sobre las convulsiones inducidas con Pentilentetrazol en ratones CD-1.

RESUMEN

Cuahuilagua (*Heliocarpus terebinthinaceus*) es un árbol que crece en la selva baja caducifolia y pertenece a la Familia Malvaceae, de dicha familia botánica se han obtenido extractos vegetales de los cuales se ha demostrado que presentan compuestos químicos de tipo Flavonol como la quercetina, el kaempferol y sus glucósidos, los cuales, han sido reportados por tener efecto antioxidante, neuroprotector, antidepresivo, ansiolítico, anticonvulsivo, entre otros. Estudios científicos reportados evidencian que cuahuilagua presenta tilirósido y otros glucósidos de kaempferol, lo cual son antecedentes de que el extracto metanólico de esta planta puede tener un efecto farmacológico a nivel de sistema nervioso. Los trastornos mentales, neurológicos específicos y debidos al consumo de sustancias y el suicidio constituyen un subgrupo de enfermedades y afecciones que son una causa importante de discapacidad y mortalidad, y suponen una tercera parte de todos los años perdidos por discapacidad y una quinta parte de todos los años de vida ajustados en función de la discapacidad en el continente americano. De entre los padecimientos mentales, los trastornos depresivos son los más discapacitantes en la mayoría de los países del continente americano, seguidos por los trastornos de ansiedad. En este proyecto se evaluó el efecto farmacológico del extracto metanólico de las partes aéreas de *Heliocarpus terebinthinaceus* sobre el sistema nervioso; se empleó una batería de pruebas farmacológicas para evaluar el **efecto antidepresivo** (prueba de natación forzada), **efecto ansiolítico** (modelo de laberinto elevado en forma de cruz, y modelo de campo abierto), **efecto hipnótico** (prueba de potenciación el efecto hipnótico del pentobarbital), y **efecto anticonvulsivo** (modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol). Las dosis empleadas (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, v.o) presentaron un efecto antidepresivo en el modelo de natación forzada por disminuir el tiempo de inmovilidad en comparación con el grupo de vehículo ($p < 0.001$). En el modelo de laberinto elevado en forma de cruz las dosis 50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, v.o aumentaron significativamente el porcentaje de permanencia de los ratones en los brazos abiertos al compararlos con el grupo de vehículo ($p < 0.001$) lo cual evidencia un efecto ansiolítico. En el modelo de campo abierto todas las dosis evaluadas (50,

100, 150, 200 y 250 mg/kg, v.o) tuvieron una disminución significativa de los cruces totales en el dispositivo ($p < 0.001$) lo cual indica que el extracto presenta un efecto depresor del sistema nervioso. En el modelo de potenciación del estado hipnótico de pentobarbital ninguna dosis fue capaz de inducir hipnosis en los ratones. En el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol la dosis 150 mg/kg, v.o. del HtEM retrasó la latencia de las convulsiones de forma significativa ($p < 0.05$) y todas las dosis evaluadas fueron capaces de proteger al 100% de los ratones de la muerte ($p < 0.001$). El análisis de HPLC del HtEM permitió identificar compuestos del grupo de los flavonoides mediante el tiempo de retención y los espectros UV, se logró determinar al glucósido de quercetina con un t_r de 9.103 min y un espectro de UV con máximos de absorción a 211.0, 254.5, 349.4, 452.4 y 522.6 nm; y verbascósido, con un tiempo de retención de 9.732 min y un espectro de UV con máximos de absorción a 207.5, 330.3, 475.4, 517.8 y 555.4 nm. Estos compuestos químicos son los que se les atribuyen los efectos biológicos encontrados en este proyecto.

1. Introducción

Los trastornos mentales, neurológicos específicos y debidos al consumo de sustancias y el suicidio constituyen un subgrupo de enfermedades y afecciones que son una causa importante de discapacidad y mortalidad, y suponen una tercera parte de todos los años perdidos por discapacidad y una quinta parte de todos los años de vida ajustados en función de la discapacidad en el continente americano. De entre los padecimientos mentales, los trastornos depresivos son los más discapacitantes en la mayoría de los países del continente americano, seguidos por los trastornos de ansiedad (Organización Panamericana de la Salud, 2018).

La depresión afecta a más de 300 millones de personas en todo el mundo, el tratamiento de la depresión se basa en el uso de antidepresivos tricíclicos, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (Chávez, 2019). Estos fármacos, aunque clínicamente eficaces, también han demostrado tener una actividad de inicio retardado y producir efectos secundarios adversos importantes. (Fajemiroye, 2016). Las plantas medicinales se presentan como fuente de estudio en la búsqueda de nuevas terapias (Chávez, 2019).

Helicocarpus terebinthinaceus, conocido también como cuahuilagua, es un árbol que crece en la selva baja caducifolia, perteneciente a la familia Malvaceae. De dicha familia botánica se han obtenido extractos vegetales de los cuales se ha demostrado que presentan compuestos químicos de tipo Flavonol como la quercetina, el kaempferol y sus glucósidos, los cuales han sido reportados por tener efecto antioxidante, neuroprotector, antidepresivo, ansiolítico, anticonvulsivante, entre otros (Fernández, 2006). Inclusive hay registros de diversas poblaciones que consumen las partes aéreas de *H. terebinthinaceus* en infusión para tratar paño, acné, gastritis y enfermedades estomacales asociadas a agentes antimicrobianos (Fernández, 2006).

Estudios científicos reportados evidencian que el extracto metanólico de esta planta (cuahuilagua) presenta tilirósido y otros glucósidos de kaempferol; cuyo compuesto

mostró actividades farmacológicas muy interesantes, tales como el efecto citotóxico para líneas celulares leucémicas humanas y actividad anticomplemento (Nowak, 2003).

Por lo que estos antecedentes son indicativos del posible efecto farmacológico a nivel de sistema nervioso, además de que también se sabe que el tilirósido, un flavonoide glucosídico dietético natural, inhibe la neuroinflamación y se han hecho estudios sobre los mecanismos moleculares implicados en la inhibición de la neuroinflamación y neurotoxicidad por tilirósido (Velagapudi, 2018).

Por otro lado, la necesidad de nuevas estrategias en la investigación sobre la ansiedad no solo está limitada por los modelos animales existentes, sino también por la necesidad de tratamientos novedosos, seguros y eficaces para toda la gama de trastornos relacionados con la ansiedad. La creciente preocupación médica y pública sobre el perfil de efectos secundarios de los ansiolíticos de benzodiacepina comúnmente recetados que, de manera aguda, pueden incluir deterioro cognitivo y, crónicamente, el desarrollo de dependencia de dosis normales (Etchebarne, 2019)

En el presente trabajo se evaluó el efecto farmacológico del extracto metanólico de las partes aéreas de *Heliocarpus terebinthinaceus* sobre el sistema nervioso; para lo cual se empleó una batería de pruebas farmacológicas para evaluar el efecto antidepressivo (prueba de natación forzada), efecto ansiolítico (modelo de laberinto elevado en forma de cruz, y modelo de campo abierto), efecto sedante (prueba de potenciación el efecto hipnótico del pentobarbital), y efecto anticonvulsivante (modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol). Estas pruebas son validadas a nivel mundial en la búsqueda de efecto farmacológico de extractos con actividad a nivel del sistema nervioso.

2. Antecedentes

2.1 Enfermedades mentales

La salud mental es parte integral de la salud y del bienestar, según la OPS (Organización Panamericana de la Salud, 2018) la salud mental puede ser definida como; “Un estado de completo bienestar físico, mental y social, que permite a los individuos realizar sus habilidades, afrontar el estrés normal de la vida, trabajar de manera productiva y fructífera, y hacer una contribución significativa a sus comunidades”. Sin embargo, la salud mental ha sido objeto de abandono e indiferencia. La carga de los trastornos mentales en la Región de las Américas, (OPS, 2018) menciona que las enfermedades mentales se consideran cada vez más una prioridad mundial en materia de salud; dada su carga económica, también se las está empezando a considerar una prioridad de desarrollo mundial.

De esta manera, la OMS 2013, hizo hincapié en que las personas con trastornos mentales presentan tasas desproporcionadamente elevadas de discapacidad y mortalidad, en el plan de acción sobre la salud mental 2013-2020, se planteó que las personas con depresión mayor o esquizofrenia tenían una probabilidad de muerte prematura un 40% a 60% mayor que la población general, debido a los problemas de salud física, que a menudo no son atendidos (por ejemplo, cánceres, enfermedades cardiovasculares, diabetes e infección por VIH), y al suicidio. A nivel mundial, el suicidio es la segunda causa más frecuente de muerte en los jóvenes.

Un estudio en la evaluación de los servicios de salud mental en México en 2015 presentó un total de 4, 936,614 de casos de depresión, que equivale a un 4.2% de la población general (OPS, 2018). Según esto, alrededor de 4,281,809 personas padecen el trastorno de ansiedad, lo que representa un 3.6% de la población total (OPS, 2018). El mencionar sólo las cifras de depresión y ansiedad, es debido a que son los trastornos más comunes, con diversas implicaciones; sin desestimar a los demás.

Por lo que la problemática sanitaria en relación con los diferentes trastornos mentales es preocupante a nivel mundial y nacional.

2.1.1 Depresión

Según la OMS (2019), la depresión es un trastorno mental frecuente y una de las principales causas de discapacidad en todo el mundo. Afecta a más de 300 millones de personas en todo el mundo, con mayor prevalencia en las mujeres que en los hombres.

Cuyos pacientes se caracterizan por presentar tristeza, pérdida de interés y de la capacidad de disfrutar, sentimientos de culpa o baja autoestima, trastornos del sueño o del apetito, cansancio y falta de concentración. También puede presentar diversos síntomas físicos sin causas orgánicas aparentes. La depresión puede ser de larga duración o recurrente, y afecta considerablemente a la capacidad de llevar a cabo las actividades laborales y académicas y de afrontar la vida cotidiana. En su forma más grave, puede conducir al suicidio.

La depresión de leve a moderada se puede tratar eficazmente con terapias que utilizan el diálogo, como la terapia cognitivo-conductual o la psicoterapia. Los antidepresivos pueden ser un tratamiento eficaz para la depresión de moderada a grave, pero no son el tratamiento de elección para la depresión leve (OMS, 2019).

2.1.1.1 Clasificación

Dependiendo del número y de la intensidad de los síntomas, los episodios depresivos pueden clasificarse como leves, moderados o graves (Luna, 2001).

Trastorno depresivo recurrente: se caracteriza por repetidos episodios de depresión. Durante estos episodios, hay estado de ánimo deprimido, pérdida de interés y de la capacidad de disfrutar, y reducción de la energía que produce una disminución de la actividad, todo ello durante un mínimo de dos semanas. También es frecuente que se padezcan síntomas de ansiedad, alteraciones del sueño y del apetito, sentimientos de culpa y baja autoestima, dificultades de concentración e incluso síntomas sin explicación médica.

Trastorno afectivo bipolar: consiste característicamente en episodios maníacos y depresivos separados por intervalos con un estado de ánimo normal. Los episodios

maníacos cursan con estado de ánimo elevado o irritable, hiperactividad, logorrea, autoestima excesiva y disminución de la necesidad de dormir.

Por otro lado, ("Criterios diagnósticos. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales" 1994), citado en (Dechent, 2008), menciona que dicha clasificación incluye la depresión mayor, depresión menor, trastorno distímico y trastorno adaptativo.

Depresión mayor: presencia de 5 o más de los siguientes síntomas: estado de ánimo depresivo, disminución marcada del interés o anhedonia, pérdida importante de peso en ausencia de dieta o ganancia de peso, insomnio o hipersomnia, agitación o lentificación psicomotora, fatiga o pérdida de energía, sentimientos excesivos de inutilidad o culpa, disminución de la capacidad para concentrarse, pensamientos recurrentes de muerte o suicidio. Al menos uno de los síntomas debe ser estado de ánimo depresivo o disminución de interés o anhedonia. Los síntomas persisten más de 2 meses, no se explican por otras enfermedades o duelo y provocan malestar clínicamente significativo o deterioro funcional.

Depresión menor: presencia de a lo menos 2, pero menos de 5 síntomas de la depresión mayor (DM). Los síntomas persisten más de 2 semanas, no se explican por otras enfermedades o presencia de duelo y provocan malestar clínicamente significativo o deterioro funcional. Diagnóstico sólo es posible en ausencia de historia de DM, distimia, bipolar o alteraciones psicóticas.

Trastorno distímico: presencia de estado de ánimo depresivo y 2 o más de los síntomas de la depresión mayor: pérdida o aumento de apetito, insomnio o hipersomnia, fatiga, sentimientos excesivos de inutilidad o culpa, dificultad para concentrarse o tomar decisiones, sentimientos de desesperanza. Duración de 2 años y sin períodos de ausencia de síntomas de más de 2 meses. Ausencia de episodios de DM. Provocan malestar significativo y deterioro funcional.

Trastorno bipolar: cumple criterio de DM y tiene antecedentes de al menos 1 episodio maníaco o episodio mixto. No deben superar los 6 meses después de retirado el evento estresante y provoca malestar significativo o deterioro funcional.

Trastorno adaptativo con ánimo depresivo: sujetos que desarrollan estado de ánimo depresivo, tendencia al llanto o desesperanza en los 3 meses posteriores a un evento estresante. El duelo no es considerado un evento estresante.

2.1.1.2 Prevalencia

La depresión representa un problema de salud pública debido a su alta prevalencia alrededor del mundo. La etiología de la depresión es compleja ya que en ella intervienen factores psicosociales, genéticos, y biológicos (Corea Del Cid, 2021).

Cada año más personas alrededor de todo el mundo son diagnosticadas con depresión, dentro de las cuales se encuentran muchos adolescentes y adultos jóvenes. El impacto de los factores psicosociales en la población adolescente y en los adultos jóvenes pueden exacerbar la intensidad de la enfermedad y aumentar exponencialmente las ideaciones suicidas, los intentos suicidas e incluso lograr el cometido con éxito.

Las prevalencias observadas en los Estados Unidos, Europa y Brasil son más elevadas ya que más de 15% de población ha padecido depresión mayor alguna vez en su vida y más del 6% durante el año anterior. En Estados Unidos se reporta que alrededor de uno de cada cinco adultos mayores de 18 años presentaron sintomatología asociada con el trastorno depresivo en el 2019. En México la depresión ocupa el primer lugar de discapacidad para las mujeres y el noveno para los hombres. Los datos de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica (ENEP) en México señalan que el 9.2% de los mexicanos sufrieron un trastorno afectivo en algún momento en su vida y 4.8% en los doce meses previos al estudio (Corea Del Cid, 2021)

Se estima que durante la pandemia por el SARS-CoV-2, los porcentajes de la población que padecen depresión han aumentado, ya que el cambio inesperado y tan largo en cuarentena pudo haber afectado a miles o millones de personas, haciéndolos entrar en episodios de ansiedad y depresión, sin embargo, no hay un

número exacto de casos, ya que por lo mismo del cierre de diversos trabajos y plataformas sin actualizar como el INEGI y la OMS, es difícil tener un porcentaje o un número total de casos (Padilla *et al.*, 2022).

2.1.1.3 Fisiopatología

La fisiopatología de la depresión tiene múltiples ejes, se han presentado teorías biológicas y psicológicas, no obstante, con los recientes estudios, es indudable la activación de los mecanismos inmunológicos y su importancia en el tratamiento farmacológico (Bernaras *et al.*, 2019).

- I. **La hipótesis monoaminérgica:** esta hipótesis es el marco conceptual predominante que aborda la fisiopatología de la DM y establece que el síndrome se origina por la menor disponibilidad de monoaminas en el cerebro, principalmente de serotonina (5-HT) y noradrenalina (NA). La hipótesis originalmente se basa en que la mayoría de los fármacos antidepressivos aumentan el nivel cerebral de 5-HT y NA mediante la inhibición de su recaptura o de su degradación enzimática. Estudios recientes aportan mayor sustento a la hipótesis. Por ejemplo, imágenes con PET revelan que los pacientes con DM muestran mayor expresión de la monoamino-oxidasa A (MAO-A) en la CPF, la corteza temporal, el hipocampo, el tálamo, el núcleo accumbens (NAc) y el mesencéfalo. Este hallazgo hace suponer que la mayor tasa de degradación de 5-HT y NA es uno de los mecanismos fisiopatológicos que atenúa la transmisión monoaminérgica. Por su parte, el polimorfismo G1463A en el gen de la hTPH2 sugiere que el déficit serotoninérgico reside en la síntesis de 5-HT, ya que el correspondiente cambio de aminoácido resulta en la pérdida del 80% de la función enzimática. La asociación con la DM se confirma cuando en un grupo de 87 pacientes, el 10% portaba el polimorfismo G1463A, un porcentaje significativamente mayor al valor encontrado (1%) en la muestra ($n=219$) de individuos sanos.

Una evidencia clínica que apoya la hipótesis monoaminérgica proviene de estudios en pacientes sometidos al protocolo de depleción del triptófano (Trp) cerebral. Una predicción del paradigma es que la depleción facilita la recaída depresiva sólo en aquellos pacientes que respondieron al tratamiento con los inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT (SSRIs).

Es limitado el número de estudios cuando se reduce el nivel cerebral de NA y dopamina, sin embargo, los datos apuntan en la misma dirección que en la depleción del Trp. Una evidencia a favor del componente noradrenérgico proviene de estudios *post-mortem* en donde se midió la unión de un ligando del transportador de NA en el locus coeruleus (LC). En una muestra de pacientes con DM se encontró una menor densidad del transportador respecto a los sujetos control. Se postula que este cambio es resultado de la menor biodisponibilidad de la NA en la sinapsis, lo que es plausible considerando que la mayor expresión de la MAO-A en el mesencéfalo estaría incrementando la degradación enzimática de la NA.

- II. **La hipótesis neurotrófica:** esta hipótesis propone que la DM también se debe a la atrofia neuronal producto de la menor expresión del factor de crecimiento derivado del cerebro (BDNF). También propone que el estrés crónico desregula al eje HPA propiciando la exposición sostenida del tejido nervioso al cortisol y, con ello, la inhibición de la expresión del BDNF. Estudios *post-mortem* aportan evidencia del mecanismo neurotrófico, pues se ha observado una menor expresión del BDNF y de su receptor TrkB en el hipocampo y la CPF de pacientes con DM, respecto a individuos sin padecimiento psiquiátrico al momento del deceso. Otro estudio, reporta que pacientes con DM bajo tratamiento farmacológico muestran una mayor expresión del BDNF en el hipocampo, comparado con pacientes sin tratamiento. El resto de la evidencia proviene de estudios en roedores sometidos a estrés crónico. Un efecto común de los paradigmas de estrés es la menor expresión del BDNF y de su receptor TrkB en el hipocampo, mientras que la administración crónica de antidepresivos revierte el efecto del estrés sobre ambas proteínas. Además, los antidepresivos reducen el

daño inducido por el estrés sobre la arborización dendrítica de las neuronas piramidales del hipocampo y estimulan la neurogénesis. La evidencia conductual proviene de modelos murinos de conducta depresiva. Por ejemplo, se cree que la prueba de nado forzado (NF) mimetiza la conducta de desesperanza del humano, y a pesar de su simpleza metodológica tiene gran valor predictivo de la eficacia terapéutica de los antidepresivos. Con la de nado forzado se reporta que la inyección de BDNF (un día antes de la prueba) en el hipocampo de la rata tiene efecto antidepresivo con eficacia similar al tratamiento farmacológico. Sin embargo, este efecto conductual agudo del BDNF contrasta con el hecho de que sólo el tratamiento crónico (21 días) con antidepresivos aumenta la expresión del BDNF y su receptor en esta misma especie. Es decir, el desfase entre el efecto conductual en NF y génico del BDNF debe tomarse con reserva como sustento de la hipótesis neurotrófica.

2.1.1.4 Tratamiento

Los fármacos antidepresivos se clasifican por función de su estructura química, de su mecanismo de acción y de su cronología de aparición (López *et al.*, 2006).

Las generaciones de los fármacos se pueden clasificar de la siguiente manera:

- *Antidepresivos de la primera generación:* La mayoría de ellos son tricíclicos, como lo es la amitriptilina, clomipramina, desipramina, imipramina y nortriptilina
- *Antidepresivos de la segunda generación:* Son heterogéneos en su estructura química, estos incluyen la maprotilina, la mianserina y la viloxacina.
- *Antidepresivos de la tercera generación:* Se constituye por los inhibidores de la recaptación de la serotonina (citalopran, fluoxetina, fluvoxamina, nefazodone, paroxetina y trazodone) (Flórez *et al.*, 2005; Baños y Farre, 2002).

Tabla 1. Fármacos utilizados en el tratamiento de personas con trastornos depresivos y sus efectos secundarios.

Fármacos	Efectos secundarios
Imipramina	Temblor incontrolable, espasmos musculares, dificultad para respirar, cambios en el deseo o capacidad sexual y sarpullido.
Escitalopram	Náuseas, diarrea, estreñimiento, cambios en el deseo o capacidad sexual, somnolencia, mayor sudoración, mareos, acidez estomacal, dolor de estómago, cansancio excesivo, boca seca, disminución del apetito y pérdida de peso.
Fenelzina	Pupilas dilatadas, coloración amarillenta de la piel o los ojos, temblor incontrolable, disminución de la capacidad sexual, mareos, somnolencia y constipación
Desvenlafaxina	Estreñimiento, pérdida de apetito, boca sea, mareos, cansancio extremo, sueños inusuales, bostezos, sudoración, temblor incontrolable de una parte del cuerpo, dolor, ardor, entumecimiento u hormigueo, pupilas dilatadas, cambios en el deseo o capacidad sexual y dificultad para orinar.
Vilazodona	urticaria, dificultad para respirar, pérdida del conocimiento, convulsiones, latidos cardiacos rápidos o irregulares, sangrado, alucinaciones, temblor incontrolable

2.1.2 Ansiedad

La ansiedad se define como la anticipación a una amenaza futura que surge de la percepción de estímulos generales potencialmente dañinos, evocando un estado de inquietud, agitación, preocupación e hipervigilancia (Luna, 2001).

Se ha conceptualizado a la ansiedad como un mecanismo de respuesta fisiológica y conductual generada para evitar un daño. Desde el punto de vista evolutivo se le considera una conducta adaptativa, ya que promueve la supervivencia induciendo al individuo a mantenerse alejado de situaciones y lugares con un peligro potencial. Sin embargo, la ansiedad puede convertirse en un trastorno mental, cuando esta conducta surge recurrentemente como una respuesta anticipatoria involuntaria e intensa ante una amenaza potencial, ya sea real o supuesta. Además, en los trastornos de ansiedad la respuesta es persistente e incontrolable, mermando la calidad de vida del individuo (Carballo *et al.*, 2019).

La ansiedad patológica es considerada un trastorno psiquiátrico y su diagnóstico está sujeto a un juicio clínico que depende del umbral de respuesta del individuo a estímulos ansiogénicos externos o internos (Carballo *et al.*, 2019).

2.1.2.1 Clasificación

Basados en los criterios propuestos en el DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) los trastornos de ansiedad en general producen una intensa angustia y miedo, acompañada de opresión en el pecho y un deterioro significativo del funcionamiento, niveles crecientes de preocupación y tensión por alguna situación temida. Dependiendo del tipo de trastorno se presentan síntomas particulares (Carballo *et al.*, 2019).

Angustia sin agorafobia: crisis de angustia recurrentes e inesperadas que causan preocupación permanente al paciente.

Angustia con agorafobia: crisis de angustia y agorafobia de carácter recurrente e inesperado que causan ansiedad.

Agorafobia sin historia de trastorno de angustia: se presenta al encontrarse en lugares o situaciones donde escapar puede ser difícil o embarazoso, pero sin la presencia de crisis de angustia.

Fobia específica: ansiedad como respuesta a la exposición a situaciones u objetos específicos temidos, que conllevan a comportamiento de evitación.

Fobia social: ansiedad como respuesta a situaciones sociales o actuaciones en público, que conllevan a comportamiento de evitación.

Obsesivo compulsivo: obsesiones que causan ansiedad, malestar y compulsiones cuyo propósito es neutralizar dicha ansiedad.

Estrés postraumático: ansiedad ante la reexperimentación de eventos traumáticos y comportamiento de evitación hacia estímulos relacionados con el trauma.

Estrés agudo: ansiedad y malestar que aparecen inmediatamente después a un acontecimiento traumático.

Ansiedad generalizada: ansiedad y preocupación de carácter excesivo y persistente durante al menos seis meses (Delgado *et al.*, 2021).

La fisiopatología se puede presentar por varios factores dentro del ciclo de vida del estado de ánimo como síntomas característicos de los trastornos por ansiedad dentro de estos están los estados característicos:

- Tensión motora: temblor, tensión o dolor muscular, inquietud y fatigabilidad excesiva.

- Hiperactividad Vegetativa: sensación de ahogo, taquicardia, manos frías o húmedas, boca seca, mareo, escalofrío, micción frecuente y sensación de tener un "nudo en la garganta".
- Hipervigilancia: sentirse atrapado, exageración en la respuesta de alarma, dificultad para concentrarse, insomnio e irritabilidad.

2.1.2.2 Fisiopatología

En los trastornos por ansiedad participan algunas de las estructuras cerebrales que conforman el sistema límbico, y es ahí en donde se ha observado que los fármacos ansiolíticos ejercen algunas de sus acciones. El sistema límbico es el responsable de las emociones y de las estrategias asociadas a la sobrevivencia. Entre estas emociones se encuentran: el miedo, la furia, las sensaciones ligadas al sexo o al placer y también al dolor y a la angustia (González y Parra-Bolaños, 2023).

Experimentalmente se ha demostrado la participación de algunas de las estructuras límbicas en los procesos ansiosos. Por ejemplo, la lesión del área septal en su porción lateral produce cambios en una prueba útil para evaluar procesos conductuales sugerentes de ansiedad, la prueba de lamido de agua. Estos cambios son revertidos por la estimulación eléctrica de estos núcleos. También se ha sugerido la participación de la amígdala en el proceso de la ansiedad. La lesión de la parte anterior y posterior de la amígdala central y la parte anterior de la amígdala basolateral de la rata reduce la ansiedad (Delgado *et al.*, 2021).

Además, la aplicación *in situ* de benzodiazepinas (diazepam, lormetazepam y flurazepam) y del barbitúrico fenobarbital en la amígdala, producen acciones ansiolíticas. Estas acciones reductoras de ansiedad son antagonizadas por el flumazenil, un antagonista del complejo receptor GABA/benzodiazepinas (Delgado *et al.*, 2021).

El estrés crónico, disminuye los niveles cerebrales del ácido gamma-amino butírico (GABA) en el hipocampo de la rata, lo que coincide con observaciones en humanos en estado ansioso y depresivo, en quienes se han encontrado niveles disminuidos de GABA en el líquido cefalorraquídeo.

En consistencia, la administración de fármacos ansiolíticos que tienen acciones agonistas GABAérgicos, disminuyen algunos síntomas de la ansiedad y de la depresión. Sin embargo, otros neurotransmisores como la serotonina (5-HT), la noradrenalina (NA) y la dopamina (DA) también están involucrados en la fisiopatología de los trastornos por ansiedad. En la rata, los agentes agonistas GABAérgicos promueven un incremento de la función del GABA y una reducción de los indicadores de ansiedad en pruebas conductuales; pero también los efectos ansiolíticos de los antidepresivos se deben a la estimulación de los receptores 5-HT1A en el hipocampo dorsal. De estas observaciones en animales de laboratorio y algunas en el humano, se ha sugerido que los fármacos que promueven un equilibrio en la neurotransmisión mediada por la 5-HT (p. ej.: los antidepresivos tricíclicos e inhibidores de la monoamino-oxidasa) y sobre el complejo de receptores de GABA (p. ej.: las benzodiazepinas) controlan algunas manifestaciones de los trastornos por ansiedad. Además, las hormonas esteroidales también ejercen acciones ansiolíticas en animales experimentales y en el humano por acciones agonistas sobre los receptores GABA.

2.1.2.3 Tratamiento

En la actualidad, para el tratamiento de la ansiedad se recomienda entre los derivados de la BZD el clordiazepóxido, diazepam, oxazepam, lorazepam, prazepam, alprazolam, halazepam y clonazepam. Serán útiles en casos de significativa disforia; si la ansiedad es incapacitante o disfuncional (Cerballo, 2019). La probabilidad de producir efectos adversos se incrementa con el uso prolongado de BZD. A dosis hipnóticas pueden producir aturdimiento, laxitud, incremento del tiempo de reacción, trastorno de las funciones mentales y motoras, confusión, agitación, psicosis, debilidad, cefalalgia, vértigo, náuseas, vómitos, diarrea. Puede haber somnolencia residual durante el día. Hay otras menos frecuentes como reacciones alérgicas, hepatotóxicas y hematológicas, reacciones de desinhibición o descontrol que pueden acompañarse también de paranoia, depresión e ideación suicida, estas últimas son raras y pueden relacionarse con la dosis (Luna *et al.*, 2001).

Tabla 2. Fármacos utilizados para el tratamiento de los trastornos de ansiedad y sus efectos secundarios.

Fármacos utilizados	Efectos secundarios
Diazepam	Pérdida del control de los movimientos corporales, temblor incontrolable, respiración y ritmo cardiaco lento, mareos, debilidad muscular, dolor de cabeza, boca seca, confusión y cambios en el deseo o capacidad sexual
Bromazepam	Debilidad muscular, disminución de la vigilancia, trastornos gastrointestinales, alteraciones de la libido, reacciones cutáneas, confusión, mareo, aumento del apetito y conducta inadecuada
Lormetazepam	Agitación, irritabilidad, agresividad, delirios, ataques de ira, pesadillas, alucinaciones, psicosis, comportamiento inadecuado, discrasia sanguínea, hipotensión y amnesia
Alprazolam	Dificultad para respirar, convulsiones, urticaria intensa, ictericia en la piel u ojos, confusión, somnolencia, aturdimiento, dolor de cabeza, cansancio, mareos, irritabilidad, cambios en el deseo o capacidad sexual, estreñimiento y dolor de articulaciones

2.1.3 Epilepsia

La epilepsia es una enfermedad cerebral no transmisible crónica que afecta a unos 50 millones de personas en todo el mundo. Según la OMS (2019), esta se caracteriza por convulsiones recurrentes, que son episodios breves de movimiento involuntario que pueden involucrar una parte del cuerpo (parcial) o todo el cuerpo (generalizado) y en ocasiones se acompañan de pérdida de conciencia y control de la función intestinal. Las convulsiones se deben a descargas eléctricas excesivas de grupos de células cerebrales que pueden producirse en diferentes partes del cerebro. Las convulsiones pueden ir desde episodios muy breves de ausencia o de contracciones musculares hasta convulsiones prolongadas y graves. Su frecuencia también puede variar desde menos de una al año hasta varias al día (Prior, *et al.*, 2023).

Las características de las convulsiones varían y dependen de en qué parte del cerebro comienza la alteración y cómo se propaga. Ocurren síntomas temporales, como pérdida del conocimiento o la conciencia, y alteraciones del movimiento, de los sentidos (incluyendo visión, audición y gusto), estado de ánimo u otras funciones cognitivas (Prior, *et al.*, 2023).

2.1.3.1 Clasificación

Las crisis epilépticas se clasifican en focales y generalizadas, en función de cómo y dónde comienza la actividad cerebral anormal (Huaranga, 2020).

- ❖ **focales o parciales:** Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades mencionan que las convulsiones principalmente se localizan en una sola área del cerebro. Este tipo de epilepsia también se conocen como convulsiones parciales. Dentro de este tipo de convulsiones se encuentran las convulsiones focales simples que afectan a una pequeña parte del cerebro, la cual puede provocar sacudidas o un cambio de sensación, como un sabor o un olor extraño. Por otra parte, también están las convulsiones focales complejas que pueden hacer que la persona con epilepsia se sienta confundida por lo tanto la persona no podrá responder preguntas ni seguir instrucciones por unos pocos minutos. Y por último están las convulsiones generalizadas secundarias, que inician en una parte del cerebro, pero luego se extiende a ambos lados del cerebro. En otras palabras, la persona primero tiene una convulsión focal, seguida de una convulsión generalizada, por ello el nombre de convulsión generalizada secundaria (CDC, 2018).
- ❖ **generalizadas:** Es un período de actividad eléctrica descontrolada que se da en el cerebro, la cual puede deberse a una condición médica que provoca convulsiones recurrentes (epilepsia). Estas convulsiones llegan afectar a personas de cualquier edad, pero son más comunes en los niños y adultos jóvenes, por otra parte, los síntomas más comunes son la pérdida de conciencia, con pérdida de memoria y confusión después de la convulsión. Otras causas pueden ser fiebre alta (en niños), abstinencia alcohólica, infecciones del sistema nervioso y niveles muy bajos de azúcar en la sangre por ejemplo las personas diabéticas (CDC, 2018).



2.1.3.2 Fisiopatología

Los mecanismos que generan una descarga eléctrica son: disminución de los mecanismos gabaérgicos, aumento de los mecanismos excitadores mediados por ácido aspártico y glutámico y una alteración de la conducción transmembrana de los iones sodio y calcio. Los neurotransmisores que participan en la generación de las convulsiones pueden ser excitatorios o inhibitorios, los primeros abren canales de sodio y calcio como el glutamato y la acetilcolina, y los inhibidores abren los canales de potasio y de cloruro como el GABA (Orive, 2019).

- I. **Mecanismos Gabaérgicos en la Epilepsia:** El ácido gamma-aminobutírico es el neurotransmisor inhibitorio más extendido en el sistema nervioso central (SNC). Se evalúa en un 30% la proporción de sinapsis del SNC en las que interviene el GABA. Este neurotransmisor vehiculiza diferentes tipos de inhibición y juega un rol en el control de las funciones motrices y mantiene el tono inhibitorio que contrabalancea la excitación neuronal. Cuando este balance es perturbado pueden surgir distintas patologías. Estudios experimentales y clínicos indican que GABA tiene un importante rol en los mecanismos y tratamientos de la epilepsia. Sin embargo, las bases moleculares y celulares de los síndromes epilépticos aún deben ser determinadas. Sin embargo, considerables evidencias sugieren que una función gabaérgica dañada puede causar crisis epilépticas y estar implicada en algunos tipos de epilepsia (Paredes, 2023).
- II. **Mecanismos Excitatorios en la Epilepsia:** Ha transcurrido medio siglo desde que se demostró por primera vez que la aplicación de glutamato monosódico en la corteza cerebral induce despolarizaciones masivas. En la actualidad, existe consenso que el glutamato es el agente neurotransmisor empleado en la mayoría de las sinapsis excitadoras del SNC. Además de la función como mediador de la transmisión sináptica, participa durante la formación del sistema nervioso en procesos de crecimiento y maduración neuronal, en la formación y eliminación de sinapsis y, en determinadas áreas y de forma dependiente de actividad, en la formación de patrones precisos de conectividad sináptica (Paredes, 2023).

En referencia a la epilepsia, numerosos estudios ponen de manifiesto diversas alteraciones del sistema glutamatérgico. La sobreexcitación de las neuronas por glutamato puede producir descargas epilépticas y la aplicación directa de glutamato en la amígdala puede inducir un efecto similar al kindling. El kindling se define como la administración repetida de un estímulo eléctrico subconvulsivo o subliminal que conduce a un aumento progresivo de la actividad convulsiva generalizada. Estos hechos demuestran que el sistema glutamatérgico se encuentra profundamente involucrado en la patología de la epilepsia. Más recientemente se ha asociado la marcada muerte neuronal que se encuentra tanto en cerebros humanos como en modelos animales a la sobreactivación de los receptores glutamatérgicos.

- III. **Muerte neuronal por excitotoxicidad:** Las crecientes evidencias experimentales y clínicas concernientes a la posible toxicidad de los aminoácidos excitatorios han dado lugar a la teoría excitotóxica. Esta teoría postula que niveles excesivos de glutamato endógeno, o una hipersensibilidad de sus receptores, puedan mediar varios de los hallazgos que caracterizan a la degeneración neuronal. Diversos trabajos describen que la (epilepsia del lóbulo temporal) ELT está caracterizada por alteraciones morfológicas del hipocampo hallando una importante cantidad de neuronas muertas. La alteración más frecuentemente observada es la pérdida masiva de neuronas en el hilus del giro dentado y en las células piramidales de las capas CA1 y CA3 del hipocampo. El complejo amigdalino también es un componente importante entre las áreas blanco en esta patología (Paredes-Aragón *et al.*, 2023).

2.1.3.3 Tratamiento

Históricamente, los fármacos antiepilépticos pueden ser clasificados en tres generaciones: la primera generación comprende aquellos comercializados entre 1857 y 1958, la segunda generación los cuales fueron introducidos entre 1960 y 1975. Justo después de 1980, pasaron a ser comercializados compuestos de tercera generación, constituidos por fármacos descubiertos por el “desarrollo racional”. En la Tabla 3 se muestran los diferentes fármacos en base a la generación. Actualmente se están desarrollando antiepilépticos de cuarta generación (Targas, 2014).

Tabla 3. Fármacos utilizados para el tratamiento de trastornos epilépticos.

Primera generación	Segunda generación	Tercera generación
Bromuro de potasio	Carbamazepina	Progabida
Fenobarbital	Valproato	Gabapentina
Fenitoína	Benzodiacepinas	Vigabatrina
Primidona		Tiagabina
Trimetadiona		

2.1.3.3 Efectos secundarios no deseados

Los efectos adversos de los fármacos antiepilépticos son un problema frecuente en la población epiléptica y limitan considerablemente la calidad de vida global de estos enfermos (García-Peñas *et al.*, 2014). En la Tabla 4 se muestran los algunos efectos secundarios reportados por algunos fármacos antiepilépticos.

Tabla 4. Fármacos actuales utilizados para el tratamiento de trastornos epilépticos y sus efectos secundarios.

Fármacos utilizados	Efectos secundarios
Fentionina	Ampollas, sangrado, ritmo cardiaco irregular, movimientos oculares y corporales incontrolables, pérdida de coordinación, dolor o curvatura del pene.
Lamotrigina	Convulsiones, inflamación, sangrado, fiebre, sarpullido, ictericia, micción con sangre, dolor de pecho, debilidad muscular, acidez estomacal, somnolencia y vómitos.
Oxcarbazepina	Descamación, sarpullido, desprendimiento de la piel, llagas en la boca o alrededor de los ojos, micción con sangre, inflamación vaginal, y movimientos oculares incontrolables.

2.2 Sedación y estado hipnótico

Muchos agentes pueden deprimir la función del sistema nervioso central y producir calma o somnolencia (sedación). Los fármacos depresores del SNC incluyen benzodiazepinas, otros agonistas del receptor de benzodiazepinas (los "compuestos Z"), barbitúricos, y agentes sedantes-hipnóticos de diversa estructura química. Los fármacos sedantes-hipnóticos más antiguos deprimen el SNC de forma dependiente de la dosis, produciendo progresivamente un espectro de respuestas desde la sedación leve hasta el coma y la muerte. Un medicamento sedante disminuye la actividad, modera la excitación y calma al receptor, mientras que un medicamento hipnótico produce somnolencia y facilita la aparición y el mantenimiento de un estado de sueño que se asemeja al sueño natural en sus características electroencefalográficas y desde el cual el receptor puede despertarse fácilmente. La sedación es un efecto secundario de muchos medicamentos que no son depresores generales del SNC (p. Ej., Antihistamínicos y agentes antipsicóticos). Aunque tales agentes pueden intensificar los efectos de los depresores del SNC, generalmente producen efectos terapéuticos más específicos a concentraciones mucho más bajas que las que causan una depresión sustancial del SNC. Por ejemplo, no pueden inducir anestesia quirúrgica en ausencia de otros agentes. Los hipnóticos sedantes benzodiazepínicos se parecen a tales agentes; aunque el coma puede ocurrir a dosis muy altas, las benzodiazepinas no producen anestesia quirúrgica ni intoxicación mortal en ausencia de otras drogas con acciones depresoras del SNC; Una excepción importante es el midazolam, que se ha asociado con una disminución del volumen corriente y de la frecuencia respiratoria. Además, existen antagonistas específicos de las benzodiazepinas. Esta constelación de propiedades distingue a los agonistas del receptor de benzodiazepinas de otros fármacos hipnóticos sedantes e imparte una medida de seguridad tal que las benzodiazepinas y los compuestos Z más nuevos han desplazado en gran medida a los agentes más antiguos para el tratamiento del insomnio y la ansiedad (Olmos *et al.*, 2019).

Los fármacos sedantes-hipnóticos que no se dirigen específicamente al receptor de benzodiazepinas pertenecen a un grupo de agentes que deprimen el SNC de forma dependiente de la dosis, produciendo progresivamente calma o somnolencia (sedación), sueño (hipnosis farmacológica), pérdida del conocimiento, coma, cirugía anestesia y depresión fatal de la respiración y regulación cardiovascular. Comparten estas propiedades con una gran cantidad de productos químicos, incluidos los anestésicos generales y los alcoholes alifáticos, especialmente el etanol. Solo dos puntos de referencia en el continuo de la depresión del SNC producida por el aumento de las concentraciones de estos agentes se pueden definir con un grado razonable de precisión: anestesia quirúrgica, un estado en el que los estímulos dolorosos no provocan una respuesta conductual o autónoma, y la muerte, que resulta desde una depresión suficiente de las neuronas medulares para interrumpir la coordinación de la función cardiovascular y la respiración. Los "puntos finales" a concentraciones más bajas de depresores del SNC se definen con menos precisión, en términos de déficits en la función cognitiva (incluida la atención a los estímulos ambientales) o habilidades motoras (por ejemplo, ataxia) o de la intensidad de los estímulos sensoriales necesarios para provocar algunos respuesta refleja o conductual. Otros índices importantes de disminución de la actividad del SNC, como la analgesia y la supresión de las convulsiones, no necesariamente caen a lo largo de este continuo; pueden no estar presentes en concentraciones sub anestésicas de un fármaco depresor del SNC (p. ej., un barbitúrico), o pueden lograrse con una sedación mínima u otra evidencia de depresión del SNC (p. ej., con dosis bajas de opioides, fenitoína o etosuximida (Olmos *et al.*, 2019).

2.3 Modelos Farmacológicos

2.3.1 Nado forzado (NF)

El modelo de nado forzado es un modelo que propuso Porsolt en 1977 para evaluar el efecto antidepresivo de diferentes sustancias. Este modelo farmacológico es probablemente el más empleado en la búsqueda del potencial antidepresivo de un compuesto nuevo (McArthur y Borsino, 2006), extracto y fracciones de plantas

medicinales (*Zhang, 2004*). El parámetro de mayor validez de esta prueba es el tiempo de inmovilidad de los animales cuando se les somete a una prueba de nado. Se ha demostrado que los fármacos antidepresivos tienen la capacidad de inducir una disminución de la duración del tiempo de inmovilidad. Por lo cual, el modelo de nado forzado es una prueba farmacológica experimentalmente válida en búsqueda de sustancias de origen vegetal que pudieran tener eficacia antidepresiva en la clínica. Este modelo es sensible a los fármacos tricíclicos, inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (IMAO), inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS), cada uno de los cuales muestran una respuesta variable.

2.3.2 Laberinto Elevado en forma de Cruz (LEC)

El laberinto elevado en forma de cruz (LEC) es utilizado en la búsqueda de fármacos que puedan ser útiles en el tratamiento contra la ansiedad (*Zhang, 2004*), es un modelo que mide la tasa de aproximación contra la evitación, al presentar una selección entre un ambiente que es seguro (brazos cerrados del laberinto) y un espacio que parece novedoso, pero con un alto nivel de riesgo (incremento en la exploración de los brazos abiertos) (*File et al., 2000*). En 1987 Lister hizo el experimento usando ratones suizos, y encontró que este modelo es también útil para evaluar la disminución de la ansiedad y la generación de ésta (*Lister, 1987*). Aunque los modelos animales no representan todos los aspectos de la ansiedad de los humanos se vinculan con ciertos tipos de ansiedad, y constituyen una herramienta para la comprensión del probable mecanismo de acción ansiolítica de diferentes sustancias (*Bourin, 2015*).

2.3.3 Campo abierto (CA)

El CA fue descrito para el estudio de la emocionalidad en ratas (*Archer, 1973*), el procedimiento consiste en colocar al roedor, a un medioambiente desconocido en donde la posibilidad de escape se previene por rodear el campo con paredes (*Walsh y Cummins, 1975*). El CA es ahora uno de los procedimientos más populares para investigar la conducta animal, sobre todo la valoración de la actividad motora (*Prut y Belzung, 2003*).

2.3.4 Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital

Los barbitúricos fueron una vez empleados ampliamente como fármacos sedantes-hipnóticos. Excepto por unos pocos usos especializados, han sido ampliamente reemplazados por las benzodiazepinas que son mucho más seguras. Los barbitúricos deprimen reversiblemente todos los tejidos excitables. El sistema nervioso central es altamente sensible, y aun cuando los barbitúricos son dados en concentraciones anestésicas, los efectos directos sobre los tejidos excitables periféricos son débiles. Sin embargo, se presenta déficit grave en las funciones cardiovasculares y otras funciones periféricas se presentan en una intoxicación aguda de barbitúricos.

2.3.5 Convulsiones inducidas con pentilentetrazol

El pentilentetrazol es un fármaco que estimula el sistema nervioso central este es utilizado como agente anticonvulsivante y se usa para provocar convulsiones. Sí este es utilizado en dosis bajas de 20 mg/kg este va a producir crisis de ausencia, estas se caracterizan por breves cambios del estado de conciencia, mientras que las dosis mayores a 50 mg/kg va a provocar crisis convulsivas de tipo clónico-tónico estas son muy parecidas a las convulsiones que sufren los humanos. El pentilentetrazol (PTZ) ha sido utilizado en ratas y se ha demostrado que en dosis altas este produce un patrón típico convulsivo este consiste en movimientos faciales, cola erguida seguido por espasmos musculares del cuello y tronco que posteriormente se van a propagar a las extremidades para posteriormente perder la postura y se desencadena la fase clónica que es una serie de movimientos involuntarios bruscos y más adelante sigue la crisis tónica que es una hiperextensión de las extremidades. Por esto la administración del pentilentetrazol es considerado conveniente para estudiar las crisis tónico-clónicas generalizadas (Ramos y Correa, 2012).

2.4 Generalidades de la Familia *Tiliaceae* (sinónimo *Malvaceae*)

A esta familia se le adjudican alrededor de 50 géneros y 450 especies, está bien representada en regiones tropicales y subtropicales del mundo, siendo menos diversa en climas templados. Actualmente algunos autores proponen que Tiliaceae, junto con Malvaceae, Bombacaceae y Sterculiaceae conforman una sola familia; sin embargo, en la Flora del Bajío y de regiones adyacentes se les ha dado un tratamiento independiente.

2.4.1 *Heliocarpus terebinthinaceus*

Cuahuilagua (*Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr, 1914) es un árbol o arbusto de 4 a 5 m de alto (Figura 1), ginodioico, caducifolio, que presenta ramas viejas de color crema a café oscuro, es un elemento del matorral subtropical, del bosque tropical caducifolio, de algunos encinares de ambientes secos, que crece con frecuencia en zonas perturbadas, tales como: orillas de carreteras y de brechas, así como en terrenos de cultivo abandonado, sobre suelos y rocas de origen ígneo, de acuerdo con su abundancia en la región, se considera fuera de peligro de extinción (Pérez-Calix, 2009).

Diversos autores clasifican a *H. terebinthinaceus* como parte de la Familia Tiliaceae, proponiendo que Tiliaceae, junto con Malvaceae, Bombacaceae y Sterculiaceae conforman una sola familia (Pérez-Calix, 2009). Por otro lado, el Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM)., clasifica a *H. terebinthinaceus* dentro de la familia Tiliaceae. Por lo que la familia Tiliaceae tiene una amplia gama de investigación en cuanto a sus propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes y antimutagénicas (vide infra), de acuerdo con diversos estudios químicos y biológicos (Fernández, 2006).

2.4.2 Clasificación taxonómica

El Departamento de Botánica del Instituto de Biología (IBUNAM), clasifica a esta especie (Dirección General de Repositorios Universitarios, 2022) de la siguiente manera:

Reino: Plantae
Phylum: Tracheophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Malvales
Familia: Tiliaceae
Género: Heliocarpus
Especie: Heliocarpus terebinthinaceus

Nombre científico: *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr.

2.4.3 Usos etnomédicos

El principal uso medicinal que recibe esta planta en Oaxaca, Puebla, Tabasco y Veracruz es como cicatrizante de heridas; se utiliza la corteza en polvo que se espolvorea en la parte afectada. En Guerrero, la corteza machacada con limón y tomada en ayunas durante tres días, se administra para curar retortijones (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). Las cáscaras de los tallos se usan para apostemas, en Oaxaca se consume en infusión para el tratamiento del paño, acné, gastritis y enfermedades estomacales asociadas a agentes microbianos (Gual-Díaz y Diego-Pérez, 2018).

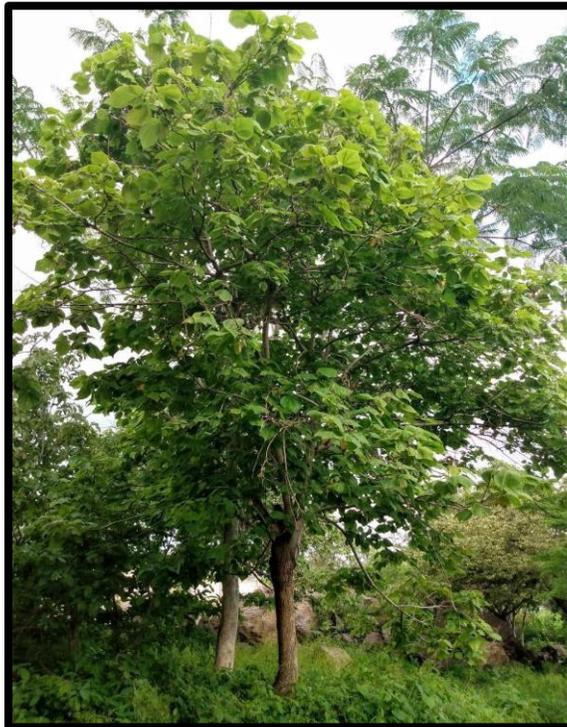


Figura 1. Árbol de Cuahuilagua (*Heliocarpus terebinthinaceus*, Tiliaceae).

2.4.4 Farmacología y fitoquímica

Estudios científicos reportados evidencian que el extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* presenta tilirósido y otros glucósidos de kaempferol; cuyo compuesto mostró actividades farmacológicas interesantes, tales como el efecto citotóxico para líneas celulares leucémicas humanas y actividad anticomplemento. Sin embargo, faltan datos sobre la presencia de este compuesto en plantas medicinales (Nowak, 2003), de tal manera que estos antecedentes son indicativos del posible efecto farmacológico a nivel del sistema nervioso. También se sabe que el tilirósido, un flavonoide glucosídico dietético natural, inhibe la neuroinflamación y se han hecho estudios sobre los mecanismos moleculares implicados en la inhibición de la neuroinflamación y neurotoxicidad por tilirósido (Velagapudi, 2018).

Hernández (2006) en su investigación “Aislamiento y caracterización del tilirósido a partir de las semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus* (cuetla)”, reporta la caracterización de un glicosil flavonoide, el 3-O-(7"-O-E-p-cumaroil)- β -D-glucosilkampferol, mejor conocido como tilirósido.

Vázquez (2007), en su estudio sobre la “evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *H. terebinthinaceus*”, cuyo objetivo principal fue la evaluación de la actividad antioxidante de los extractos de hexano, éter etílico, cloroformo, acetato de etilo, acetona y metanol de las semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus*, reportó que la cuantificación de fenoles totales de los extractos de acetato de etilo y metanol contienen la mayor cantidad de estos compuestos y al determinar los flavonoides se logró establecer que de los fenoles totales, una parte importante corresponde a flavonoides. Consecuentemente, se concluye que la actividad antioxidante de los extractos orgánicos de semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus* se debe principalmente a la presencia de flavonoides.

Por su parte, Chávez-Morales *et al.* (2019), en su estudio “Efecto de fracciones estandarizadas y tilirósido de hojas de *Tilia americana* en pruebas de depresión en ratones”, reporta que las fracciones FAC1-2, FAqC2-1 y FaqC2-3 de *T. americana* fueron capaces de inducir actividades antidepresivas, debido al contenido de flavonoides. Sin embargo, FAC1-2 es el único que indujo un efecto dosis-

dependiente en el FST. Con respecto a las fracciones acuosas, FaqC2-1 indujo un efecto importante en FST, sin embargo, a dosis altas este efecto disminuyó. Por otra parte, no fue posible detectar flavonoides en el FAC1-1, pero se identificó el ácido cafeico como el pico mayoritario en FST, cuyo efecto se observa a 12.5 mg/kg. Se podría considerar que el ácido cafeico fue el responsable de la actividad antidepresiva en este caso. Finalmente, dichas pruebas demostraron que el tilirósido y las fracciones con diferente composición química a *T. americana*, ejercen un efecto antidepresivo en la NF, TST y actividad sedante sobre la CA.

Herrera-Ruiz *et al.*, (2008) por otro lado, en su investigación “Flavonoides de *Tilia americana* con actividad ansiolítica en prueba de laberinto” indica que la administración de 100 mg/kg de *n*-hexano, acetato de etilo y extractos acuosos a ratones expuestos a mayor laberinto (EPM) no mostraron ningún efecto ansiolítico; Sin embargo, dosis idénticas de extracto de metanol fueron capaces de aumentar el porcentaje de tiempo que los ratones pasaron en los brazos abiertos del EPM, así como el porcentaje de cruces en los brazos del EPM. La curva dosis-respuesta producida por el extracto de metanol mostró actividad ansiolítica desde 25 mg/kg; los animales no mostraron alteración de la actividad motora en el ensayo de campo abierto (OFT). Por otro lado, la purificación de F1 produjo una rica mezcla ansiolítica flavonoide (F1C). Esta fracción fue purificada por la columna cromatográfica abierta RP-18 para obtener cuatro fracciones de descenso polar: F1C1, F1C2, F1C3, y F1C4, respectivamente. Siendo el tilirósido el ingrediente principal de la fracción activa. El análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento indicó que F1C estaba constituido principalmente de tilirósido, quercetina, quercitrina, kaempferol y sus glucósidos. Estos resultados apoyaron el uso de *Tilia americana* en la medicina tradicional mexicana, así como el efecto ansiolítico de una rica fracción flavonoide sin afectar la actividad motora.

3. Justificación

En los últimos años han crecido a nivel mundial los problemas relacionados con la salud mental, con la pandemia que vivimos se incrementaron los casos de trastornos de ansiedad, depresión y del sueño. En la actualidad se tienen disponibles un amplio grupo de medicamentos para el tratamiento de estos trastornos, sin embargo, es sabido que muchos de ellos presentan sus efectos farmacológicos después de algunas semanas, además de presentar efectos secundarios no deseados, tales como la sedación y alteraciones de la actividad motora, con lo cual muchos pacientes abandonan sus tratamientos y por lo tanto no encuentran una mejoría de salud. Ante este escenario la búsqueda de nuevas alternativas farmacológicas a partir de productos naturales tiene una gran importancia, lo ideal sería encontrar nuevos tratamientos eficaces y con un menor número de efectos secundarios o en su defecto, ninguno.

La OMS en el 2001 estimó que a nivel mundial existen 450 millones de personas padecen algún tipo de enfermedad mental. La ansiedad presenta tasas de prevalencia a lo largo de la vida que van desde 13.6 a 28.8% en los países occidentales. Las personas de entre 10 y 25 años tienen mayor riesgo de desarrollar una condición de ansiedad. Estas afecciones se encuentran entre las enfermedades mentales más comunes, y su prevalencia y evolución están razonablemente bien documentadas (Michael *et al.*, 2007). Por otro lado, la depresión afecta a más de 300 millones de personas en todo el mundo representando una de las principales causas de discapacidad en todo el mundo (Chávez-Morales, 2019).

Se ha descubierto que los compuestos químicos presentes en frutas, verduras, especias y plantas medicinales a base de hierbas tradicionales desempeñan funciones protectoras contra muchas enfermedades crónicas humanas, como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares (ECV) (Tsao- Deng, 2004). Por lo que la búsqueda de nuevas alternativas en plantas medicinales tradicionales abre una gran posibilidad para la obtención de fitomedicamentos a través de la extracción y purificación de estos compuestos de gran interés farmacéutico.

4. Pregunta de investigación

¿El extracto metanólico de las partes aéreas de *Heliocarpus terebinthinaceus* modificará la neurotransmisión presentando alguno de los siguientes efectos: ansiolítico, antidepresivo, sedante y/o anticonvulsivante?

5. Hipótesis

El extracto metanólico de las partes aéreas de *Heliocarpus terebinthinaceus* presentará efectos a nivel de sistema nervioso ejerciendo actividad ansiolítica, antidepresiva, hipnótica y/o anticonvulsivo en modelos *in vivo*.

6. Objetivos

6.1 Objetivo general

Evaluar la actividad ansiolítica, antidepresiva, hipnótica y anticonvulsiva del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* en modelos *in vivo*.

6.1.1 Objetivos particulares

1. Obtener un extracto de metanol de *Heliocarpus terebinthinaceus*
2. Evaluar la actividad ansiolítica del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* en ratones CD-1 en el modelo de laberinto elevado en forma de cruz.
3. Evaluar la actividad antidepresiva del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* en ratones CD-1 en el modelo de natación forzada.
4. Evaluar la actividad motora espontánea del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* en ratones CD-1 en el modelo de campo abierto.
5. Evaluar el efecto hipnótico del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* en ratones CD-1 en el modelo de potenciación del estado hipnótico de pentobarbital.

6. Evaluar el efecto anticonvulsivo del extracto metanólico de hojas de *Heliocarpus terebinthinaceus* en ratones CD-1 en el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol.
7. Identificar el grupo de compuestos presentes en el extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* mediante técnicas cromatográficas.

7. Material y métodos

7.1 Diseño experimental

La metodología que se empleó en el presente estudio se muestra en el siguiente diagrama experimental (Figura 2).

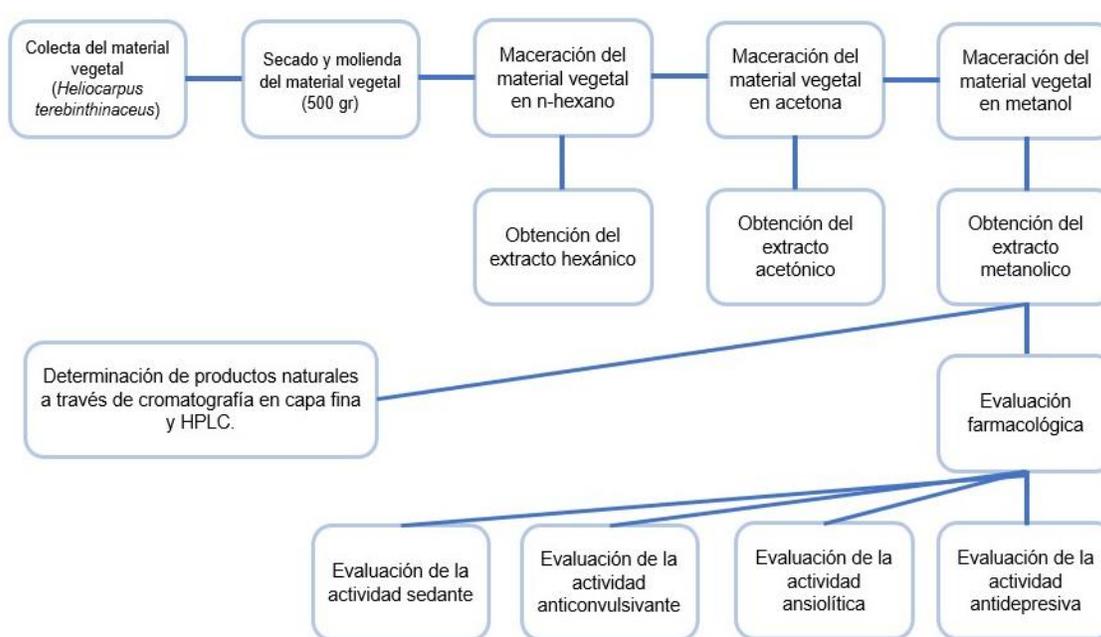


Figura 2. Metodología empleada en el presente estudio.

7.1.1 General

En el presente proyecto se utilizaron los fármacos diazepam (DZP) para la actividad ansiolítica, pentilentetrazol (metrazol) para la evaluación del efecto anticonvulsivante los cuales fueron adquiridos de Sigma Chemical. (St. Louis, MO, USA) y Cryopharma S.A de C.V. (Guadalajara, Jal, México), respectivamente. También se utilizó, imipramina el cual fue adquirido en Laboratorios Silanes, S. A. de C. V., para la evaluación antidepresiva; por otro lado, el pentobarbital sódico (PISABENTAL) fue utilizado para evaluar el efecto sedante hipnótico y fue comprado en PISA AGROPECUARIA, S, A, de C.V. Se utilizaron disolventes de polaridad ascendente, tales como hexano, acetona y metanol los cuales fueron adquiridos Mallinckrodt Baker (Phillipsburg, NY, USA). El extracto orgánico metanólico íntegro fue fraccionado y analizado mediante las diferentes técnicas cromatográficas, se empleó cromatografía en columna (CC) la cual su fase estacionaria estuvo constituida con gel de sílice 60:230. Las placas cromatográficas en capa fina (CCF) fueron de la misma naturaleza sílice 60:230 (Fase normal) y RP-18 (Fase reversa) las cuales fueron adquiridas de Merck KGaA (Darmstadt, Germany); para su revelado se utilizó reactivo NP-PEG: 2-amino-etil-difenilborinato (para detección de compuestos del grupo flavonoides) y reactivo de Komarovskiy: 4-hidroxibenzaldehído (prueba para detección del grupo de terpenos) posteriormente los compuestos presentes en el extracto metanólico se observaron en una lámpara compacta de luz ultravioleta 95-021-12 (115v) Uvp Uvgl-25 254/365 nm donde se marcaron las bandas de los mismos. Para la determinación estructural del grupo de compuestos presentes en el extracto metanólico se utilizó el equipo de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) marca Waters 2695, equipado con un detector de matriz de fotodiodos Waters 2996.

7.2 Colecta del material vegetal

La colecta de las hojas de *Heliocarpus terebinthinaceus* se realizó el 04 de octubre del 2021, de 4 árboles dentro de un rango de 50 m (figura 3), en el municipio de Xochitepec, Morelos, en la 3a. Privada de Agustín Pro s/n, Col. San Francisco, Chiconcuac, Morelos, México (18° 46' 56.4" N, 99° 11' 37.3" W) a una altitud de 1171

msnm. Una muestra de la planta fue identificada con número ASU 2949 por el M. en C. Gabriel Flores en el herbario (HUMO) del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. El peso del material fresco colectado fue de 4.6 kg.



Figura 3. Colecta del material vegetal (*Heliocarpus terebinthinaceus*)

7.3 Obtención del extracto metanólico

Las partes aéreas (hojas, frutos y semillas), se secaron durante 15 días, a temperatura ambiente en un espacio sin humedad y a la sombra (Figura 4). Después del secado el material se pesó nuevamente, dando un total de 1.27 kg de planta seca para posteriormente ser triturado en un molino manual para reducir su tamaño a partículas de 3-5 mm (Figura 5), se utilizaron 500 g del vegetal seco el cual se transfirió a un frasco limpio de 1 galón (Figura 6), posteriormente se sometió a maceración, en primera instancia con hexano (100%) utilizándose 3.1 L del mismo disolvente, esto con la finalidad de eliminar las grasas presentes, después se procedió a realizar un fraccionamiento con acetona (100%, 3.1 L) con la finalidad de separar los compuestos de una polaridad media-alta. Por último, se procedió a macerar con Metanol (100%, 3.1 L), siendo este extracto el objeto de estudio, separando los compuestos de mayor polaridad (Figura 7). La extracción se efectuó durante 3 días por triplicado con cada uno de los disolventes empleados. El disolvente fue eliminado por destilación a presión reducida con ayuda de un rotavaporador (BÜCHI 215) (Figura 8). Los extractos se secaron en su totalidad

mediante la ayuda de una campana de extracción a temperatura ambiente. Por último, se almacenaron en un congelador mabe a -18°C , para después ser utilizados en los experimentos farmacológicos y en el fraccionamiento químico, el extracto obtenido de metanol fue nombrado HtEM.1



Figura 4. Secado del material vegetal



Figura 5. Molino manual



Figura 6. Material vegetal seco (500 gr)



Figura 7. Maceración EM



Figura 8. Destilación con rotavapor

9.5 Fraccionamiento químico de HtEM obtenido de *Heliocarpus terebinthinaceus*

El extracto HtEM (5 g) fue fraccionado en una columna cromatográfica abierta, la cual fue empacada con 10 g de sílice (Figura 9), previamente el HtEM fue adsorbido en 10 g de gel de sílice (Figura 10). Un sistema de gradiente de diclorometano-metanol fue utilizado como fase móvil, iniciando con 100% del disolvente de baja polaridad y posteriormente se eluyó con gradientes de diclorometano- metanol de 90 - 10%, 80-20%, hasta llegar a 50-50% de diclorometano- metanol, por último, la columna se lavó con metanol 100%; 31 fracciones de 100 mL fueron obtenidas (Figura 11).



Figura 9. Sílice



Figura 10. HtEM adsorbido en Sílice.

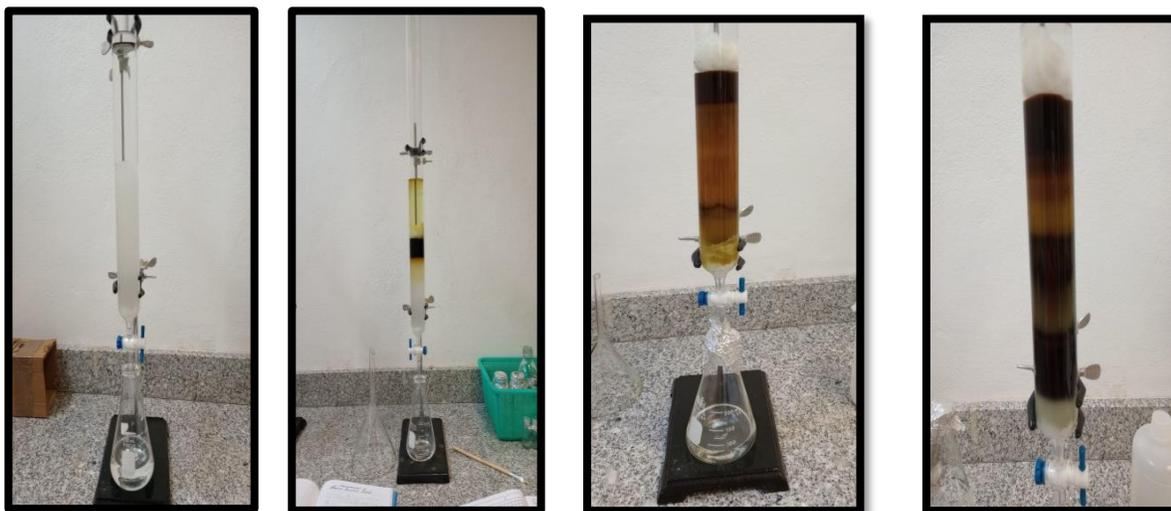


Figura 11. Fraccionamiento en columna.

Tabla 5. Fraccionamiento químico de HtEM de *Heliocarpus terebinthinaceus*.

Polaridad del sistema	Fracciones	Reuniones	Claves	Cantidades (mg)
<i>Diclorometano (100%)</i>	1-5	1-8	R1HEM1-8	11
		9-12	R2HEM 9-12	365
<i>Diclorometano-Metanol (90:10)</i>	6-11	13-16	R3HEM 13-16	29
		17-23	R4HEM 17-23	69
		24-27	R5HEM 24-27	283
<i>Diclorometano-Metanol (80:20)</i>	12-16		R6HEM 28-31	
<i>Diclorometano-Metanol (70:30)</i>	17-21			
<i>Diclorometano-Metanol (60:40)</i>	22-26	28-31		
<i>Diclorometano-Metanol (50:50)</i>	27-31			
<i>Metanol (100%)</i>		Lavado		

7.4 Análisis por HPLC

El análisis cromatográfico se realizó con un sistema HPLC (Delta Prep 4000, Waters, Milford, MA, EE. UU.) equipado con un módulo de separación Waters 2695, un detector de matriz de fotodiodos (Waters 996) y el software Pro Empower (Waters); para la separación química, se conectó una columna Supelcosil LC-F de fase inversa (250 mm x 4 mm, tamaño de partícula de 5 µm) (Merck, Darmstadt, Alemania) a una columna de guarda. Como fase móvil se utilizó agua acidificada con 0,5% de TFA (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). El sistema de gradiente fue el siguiente 0-1 min, 0% de B; 2-3 min, 5% de B, 4-20 min, 30% de B; 21-23 min, 50% de B 14-15 min; 24-25 min, 80% de B; 26-27 100% de B; 28-30 min, 0% de B. El volumen de inyección de la muestra fue de 10 µl y el caudal se mantuvo en 0,9 mL min⁻¹. La absorbancia se midió a 350 nm para determinar dos compuestos: glucósido de quercetina y verbascósido por comparación con los datos de los compuestos estándar registrados en una base de datos de nuestro grupo de trabajo.

7.5 Animales de experimentación

Se emplearon ratones macho (*Mus musculus*) CD-1 en un rango de peso de 17 - 23 g, los cuales fueron adquiridos en el bioterio de la Facultad de Medicina de la UAEM. El manejo de los animales de experimentación se llevó a cabo siguiendo la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio). Los ratones se mantuvieron en cajas de acrílico con una cama limpia de viruta de madera, a una temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, $70\% \pm 5\%$ de humedad y con ciclos de 12 h de luz/oscuridad con libre acceso a agua y alimento (Figura 12).



Figura 12. Grupos experimentales de roedores

8. Pruebas farmacológicas

8.1 Nado forzado (NF)

Para la realización de esta prueba se emplearon cilindros de plexiglás de 20 cm de alto y un diámetro de 12 cm en una superficie plana, cada uno de ellos se llenó con agua ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$) a una profundidad de 16 cm. Los cilindros fueron separados por un dispositivo de madera que tiene 6 divisiones, lo cual permitió el registro del comportamiento de 6 animales a la vez (Figura 13). El experimento consistió en tres fases: la primera se denomina “de entrenamiento”, en la cual se expuso a cada ratón al cilindro lleno de agua durante 15 minutos, una vez transcurrido este tiempo los animales fueron colocados sobre un paño limpio, posteriormente fueron colocados en una caja con cama de viruta de madera limpia y expuesto a una lámpara de luz incandescente para su secado. La segunda fase del experimento consistió en

administrar el tratamiento correspondiente. En la tercera fase o fase de prueba, los animales se colocaron nuevamente dentro del cilindro y se evaluó su comportamiento durante 5 min. El parámetro evaluado fue “Tiempo de inmovilidad” (tiempo en el cual los ratones realizan los movimientos mínimos para permanecer a flote y respirar). Al transcurrir el tiempo de la prueba, los animales fueron colocados en su cama de viruta de madera para su secado. Durante la primera y segunda fase, los cilindros se lavaron con una toalla de papel limpia y humedecida en etanol al 10% y fueron vueltos a llenar con agua. Cada experimento fue filmado con una cámara de vídeo para su posterior análisis de los resultados.



Figura 13. Prueba nado forzado

8.2 Laberinto Elevado en forma de cruz (LEC)

Para el laberinto elevado en forma de cruz se empleó un laberinto construido de acrílico el cual tiene forma de cruz, el cual mide 5 x 5 cm en el centro, los brazos abiertos y cerrados de 30 cm de largo x 5 cm de ancho; la altura de las paredes de los brazos cerrados es de 15 cm (Figura 14). Los animales fueron colocados en el centro del laberinto y se registró durante 5 min los parámetros de: tiempo de permanencia en brazos abiertos (TA) y brazos cerrados (TC), además de algunos parámetros etológicos como estiramientos verticales, acicalamiento y asomadas. Un aumento en TA y por tanto en el porcentaje de TA es indicativo de disminución de la ansiedad.



Figura 14. Prueba de laberinto elevado en forma de cruz

8.3 Campo abierto (CA)

El dispositivo empleado para esta prueba es una caja construida con acrílico, la cual tiene paredes transparentes y un fondo negro (30 x 30 x 15 cm). El fondo está dividido en 9 cuadrados de la misma área; el dispositivo se colocó sobre una mesa para la evaluación (Figura 15). La prueba consistió en colocar en el dispositivo al roedor y durante 5 min se registró el número de cruces totales en la superficie del campo (suma del número de cruces al cuadrante del centro y a la periferia) y la frecuencia de estiramientos verticales.



Figura 15. Prueba de campo abierto

8.4 Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital

El extracto fue administrado previo a la experimentación (24, 18 y 1 h), posteriormente se administró pentobarbital sódico (PISABENTAL) a la dosis de 50 mg/kg; los ratones se colocaron en una caja de acrílico transparente y con ayuda

de un cronómetro se registró: 1) la latencia: el tiempo que transcurre desde que se administró pentobarbital hasta que el animal pierde el reflejo de enderezamiento, y 2) tiempo de sueño inducido por pentobarbital: periodo de tiempo que transcurre desde que el animal entra en el periodo de narcosis hasta que recupera el reflejo de enderezamiento (Figura 16).



Figura 16. Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital

8.5 Convulsiones inducidas con pentilentetrazol

Los ratones recibieron el tratamiento 30 min previos a la experimentación con diazepam (2 mg/kg, *i.p.*, control positivo, $n=6$), y 24, 18 y 1 h antes de la evaluación se les administró agua (vehículo, *v.o.*, grupo control, $n=6$), y el extracto metanólico (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, *v.o.*, tratamiento experimental, $n=6$). Se administró pentilentetrazol (80 mg/kg, *i.p.*) a cada ratón y se colocaron en una caja transparente de plexiglás para su observación durante 30 minutos. Se registraron los siguientes parámetros:

- a) Latencia. Es el tiempo que transcurre desde la administración de pentilentetrazol hasta que aparece la primera convulsión.
- b) Número de convulsiones tónicas.
- c) Número de convulsiones clónicas.
- d) Número de convulsiones tónico-clónicas
- e) Tiempo de muerte.

8.6 Tratamientos

Se formaron 8 grupos con una $n= 6$ ratones (Figura 17), los grupos 1 al 5 corresponden a grupos experimentales y los grupos 6, 7 y 8 son los grupos controles (Tabla 6).



Figura 17. Marcaje de los ratones para su posterior agrupación

Tabla 6. Grupos formados y pruebas farmacológicas en las que fueron evaluados

Nombre de los grupos	Pruebas farmacológicas en las que fueron evaluados
1-HtEM (50 mg/kg, v.o.)	<ul style="list-style-type: none">● Campo abierto● Convulsiones inducidas con pentilentetrazol● Laberinto elevado en forma de cruz● Nado forzado● Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital
2-HtEM (100 mg/kg, v.o.)	<ul style="list-style-type: none">● Campo abierto● Convulsiones inducidas con pentilentetrazol● Laberinto elevado en forma de cruz● Nado forzado● Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital
3-HtEM (150 mg/kg, v.o.)	<ul style="list-style-type: none">● Campo abierto● Convulsiones inducidas con pentilentetrazol● Laberinto elevado en forma de cruz

	<ul style="list-style-type: none"> ● Nado forzado ● Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital
4-HtEM (200 mg/kg, v.o.)	<ul style="list-style-type: none"> ● Campo abierto ● Convulsiones inducidas con pentilentetrazol ● Laberinto elevado en forma de cruz ● Nado forzado ● Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital
5-HtEM (250 mg/kg, v.o.)	<ul style="list-style-type: none"> ● Campo abierto ● Convulsiones inducidas con pentilentetrazol ● Laberinto elevado en forma de cruz ● Nado forzado ● Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital pentilentetrazol
6- Vehículo (100 µL/10 g, v.o.).	<ul style="list-style-type: none"> ● Campo abierto ● Convulsiones inducidas con pentilentetrazol ● Laberinto elevado en forma de cruz ● Nado forzado ● Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital
7- Diazepam (1 mg/kg, i.p.).	<ul style="list-style-type: none"> ● Campo abierto ● Convulsiones inducidas con pentilentetrazol ● Laberinto elevado en forma de cruz ● Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital
8- Imipramina (15 mg/kg, v.o.)	<ul style="list-style-type: none"> ● Nado forzado

9. Resultados

Las partes aéreas (hojas, frutos y semillas), de *Heliocarpus terebinthinaceus*, fueron maceradas en primera instancia con hexano para remover las grasas contenidas en el material vegetal, obteniéndose un rendimiento para ese extracto de 1.42% (HtEH), posteriormente el mismo material se maceró con acetona obteniéndose un rendimiento de 2.8%, este extracto fue llamado HtEA. Para recuperar la fracción polar del material vegetal, una vez evaporado de este la acetona fue posible obtener un extracto metanólico vía maceración, con un rendimiento de 5.11% (HtEM).

9.1 Efecto ansiolítico del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM)

Para la evaluación de dicha actividad se emplearon las pruebas de laberinto elevado en forma de cruz y campo abierto.

Laberinto elevado en forma de cruz

En la Figura 18, se puede observar que la administración intraperitoneal de 1 mg/kg del fármaco diazepam (control positivo), indujo un aumento en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos, al compararlo con el vehículo (grupo control negativo) podemos observar una diferencia significativa en dicho porcentaje de permanencia en brazos abiertos, ya que, el tiempo de permanencia en brazos abiertos en el grupo control negativo es muy baja ,por otro lado, en el grupo control positivo, este porcentaje es mucho mayor. Por otro lado, al comparar los diferentes tratamientos empleados, con el diazepam, se pudo observar que, por ejemplo, el grupo de 50 mg/kg y 100 mg/kg mostraron un aumento en el porcentaje de tiempo de permanencia en brazos abiertos, superando incluso al fármaco antidepresivo (diazepam), el grupo de 150 mg/kg, 200 mg/kg y 250 mg/kg, aunque mostraron un menor porcentaje en el tiempo de permanencia comparados con los grupos de 50 y 100 mg/kg, aun muestran un importante aumento en el tiempo de permanencia en brazos abiertos llegando a ser similares con el fármaco antidepresivo (diazepam).

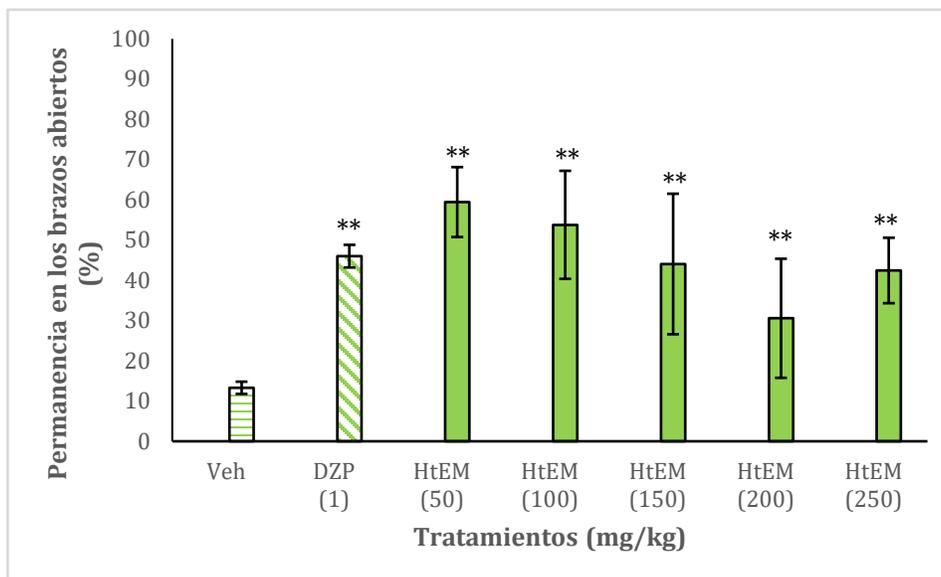


Figura 18. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. (HtEM) sobre el porcentaje del tiempo en los brazos abiertos de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de EPM. **= $p < 0.001$ con ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, diazepam; HtEM, *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr.

Por otro lado, en la figura 19, se muestran las diferencias entre el porcentaje de entradas a brazos abiertos entre los diferentes tratamientos (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg) y los grupos controles (negativo y positivo).

En este caso, si comparamos el grupo control negativo (vehículo) con el grupo control positivo (diazepam), podemos ver una gran diferencia en el número de entradas a brazos abiertos, el grupo control negativo muestra un bajo porcentaje en el número de entradas a brazos abiertos, mientras que el porcentaje que muestra el control positivo es mucho mayor. Al comparar al grupo control positivo (diazepam) con los diferentes tratamientos (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg) podemos observar una diferencia muy notoria, ya que el porcentaje de entradas de brazos abiertos es mucho mayor que el porcentaje de los diferentes tratamientos (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg).

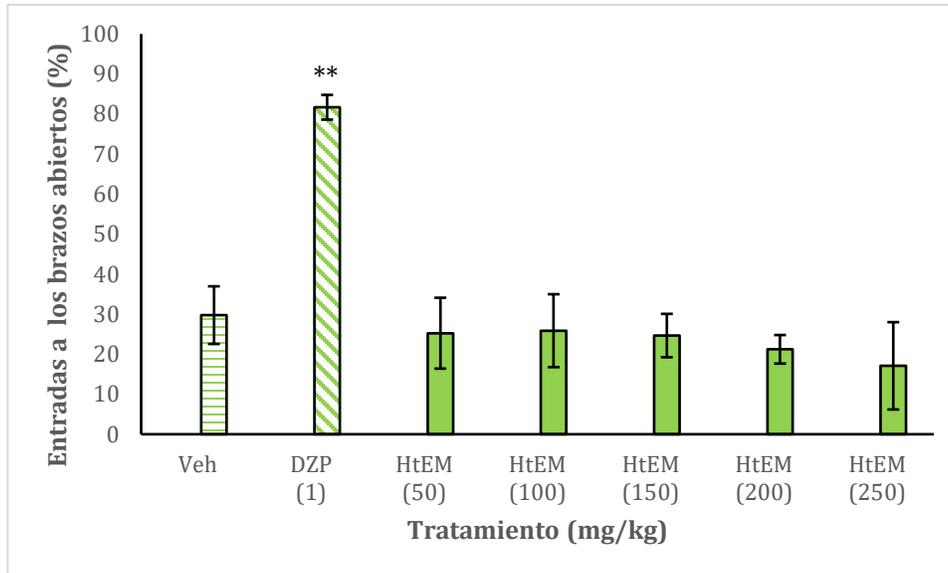


Figura 19. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM) sobre el porcentaje del de las entradas a los brazos abiertos de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de LEC**= $p < 0.001$ con ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, diazepam; HtEM extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus*.

Campo abierto

En la figura 20, se muestra que la administración de diazepam (1 mg/kg, *i.p.*) no modificó el número total de cruces de los ratones en el modelo de laberinto elevado en forma de cruz, este resultado no es diferente del que presentó el grupo de vehículo ($p > 0.05$). Todas las dosis evaluadas del extracto HtEM (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg, *v.o.*) disminuyeron el número total de cruces en el campo abierto de manera significativa ($p < 0.05$ vs. el vehículo) estos resultados indican que los compuestos presentes en el extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* tienen un efecto sedante por disminuir la actividad motora.

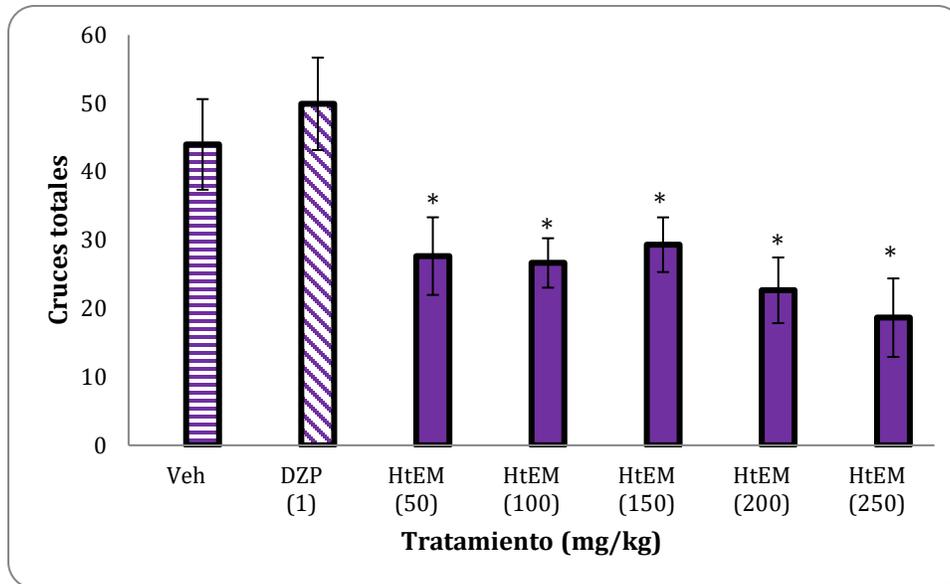


Figura 20. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. sobre el número cruces totales de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de CA. *= $p < 0.05$ con ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, Diazepam; HtEM extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. (HtEM).

En la Figura 21, se muestra el número de cruces en el centro de la arena de campo abierto, el grupo de diazepam (1 mg/kg, *i.p.*) presentó un número de cruces similar al grupo vehículo y no hay diferencia estadística ($p > 0.05$), la administración de las diferentes dosis del extracto HtEM (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg, *v.o.*) no incrementaron el número de cruces en el centro de la arena de campo abierto al compararla con el grupo vehículo ($p > 0.05$).

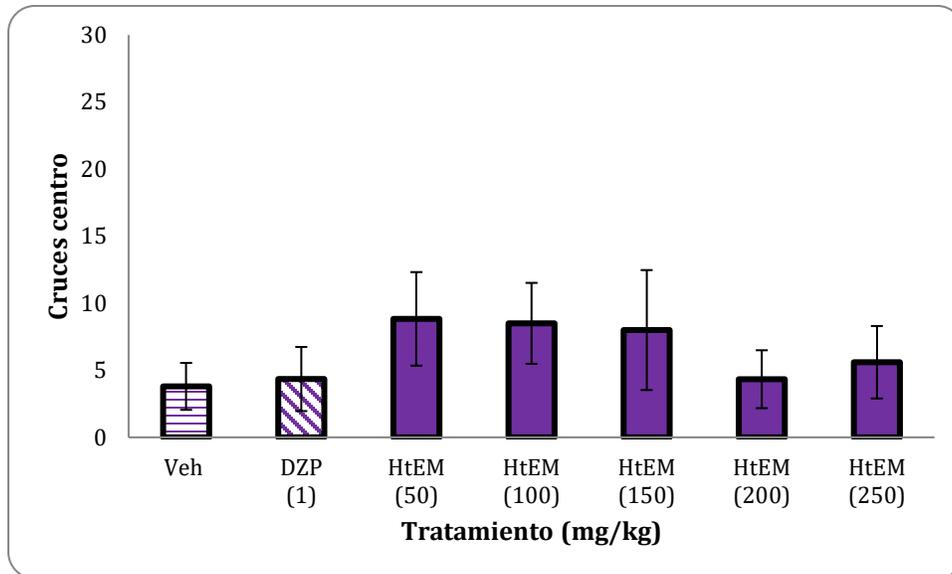


Figura 21. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. sobre el número de cruces en el centro de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de CA. $\alpha = 5\%$ con ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10g); DZP, Diazepam; HtEM extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus*

En la Figura 22, se muestra la frecuencia de estiramientos verticales de los ratones expuestos a la arena de campo abierto, el grupo de diazepam (1 mg/kg, i.p.) disminuyó significativamente el número de estiramientos verticales ($p < 0.001$ vs. vehículo). Las dosis 50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg v.o. no presentaron valores estadísticamente significativos al compararlos con el grupo control ($p > 0.05$).

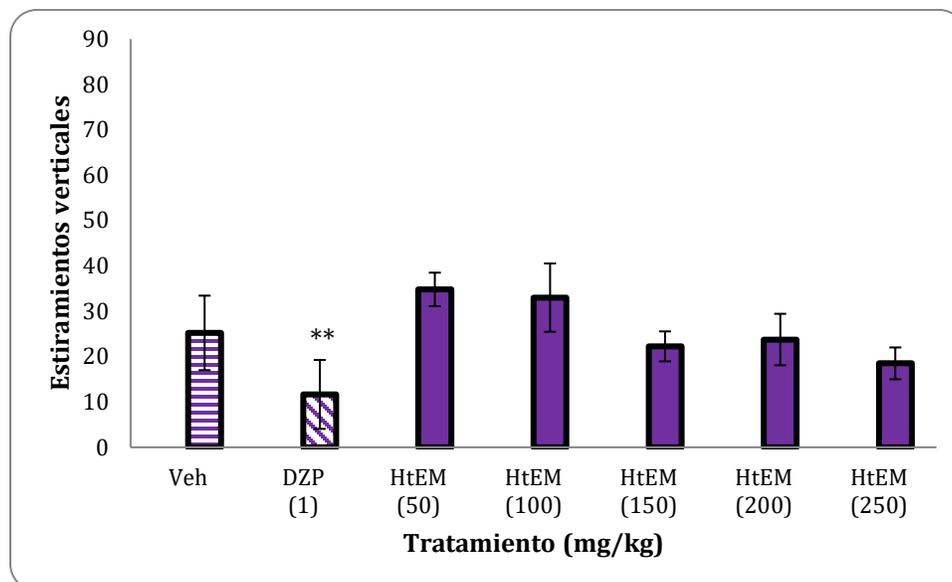


Figura 22 Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. sobre el número estiramiento verticales de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de OFT. **= $p < 0.001$ con ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, Diazepam; HtEM extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus*.

9.2 Efecto antidepresivo del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM)

La figura 23 muestra que la administración oral de 15 mg/kg del fármaco Imipramina (IMI), indujo una disminución significativa al compararla con el grupo vehículo en el tiempo de inmovilidad de los roedores durante la prueba ($p < 0.001$). Las diferentes dosis utilizadas de HtEM (50-250 mg/kg) indujeron un resultado significativo al ser comparado con el vehículo ($p < 0.001$), mostrando una gran disminución del tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado lo cual indica que el extracto induce un efecto antidepresivo inclusive mejor que con el fármaco de referencia (Imipramina).

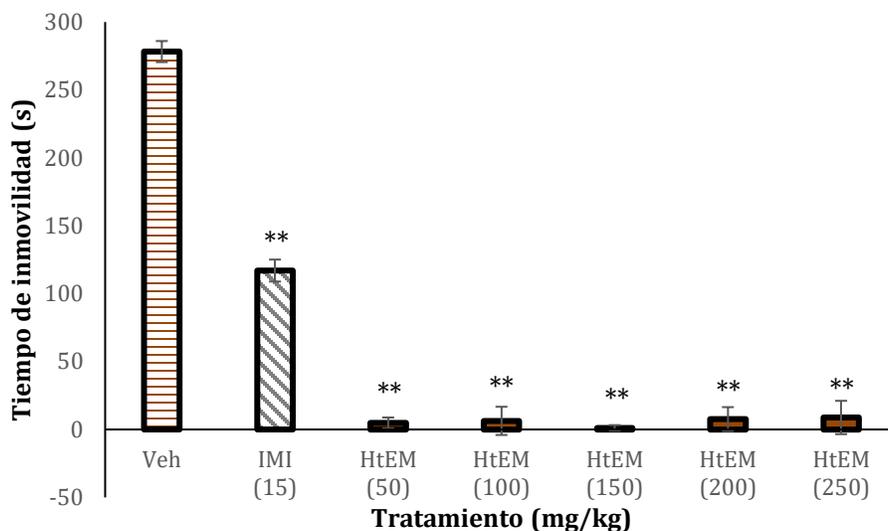


Figura 23. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. sobre el tiempo de inmovilidad de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Nado forzado. **= $p < 0.001$ con ANOVA seguida de una prueba post hoc de Tukey (media \pm D.S.). Veh = vehículo (100 μ L/10 g); IMI = clorhidrato de Imipramina; HtEM = extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus*.

9.3 Efecto sedante hipnótico del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM)

En la figura 24, se muestra que el grupo de vehículo (agua, 100 μ L/ 10 g, v.o.) no es capaz de potenciar una dosis subhipnótica de pentobarbital (35 mg/kg, *i.p.*), con lo cual los ratones no presentaron un tiempo de sueño; el grupo de diazepam (1 mg/kg, *i.p.*) es capaz de potenciar el efecto hipnótico del pentobarbital del induciendo sueño con una latencia de 183.33 ± 8.80 s, este resultado tiene un efecto significativo ($p < 0.001$ vs. vehículo) y presentó un tiempo de sueño inducido de 1616.66 ± 8.80 s ($p < 0.001$ vs. vehículo). Las diferentes dosis evaluadas del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg) no potenciaron la dosis subhipnótica de pentobarbital por lo cual no se presentó tiempo de sueño inducido.

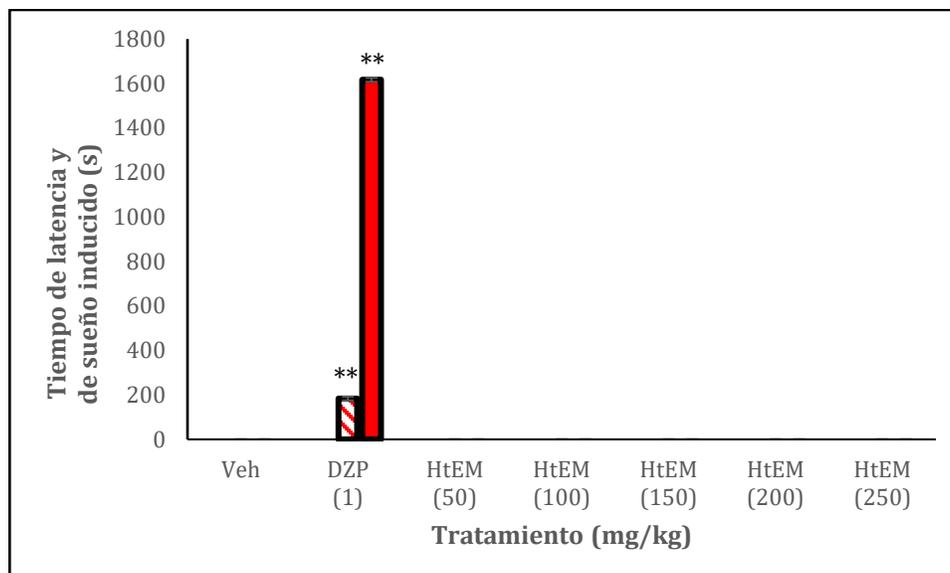


Figura 24. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. (HtEM) sobre el tiempo de latencia y tiempo de sueño inducido por el pentobarbital de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital. **= $p < 0.001$ con ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, Diazepam; HtEM extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus*.

9.4 Efecto anticonvulsivante del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM)

En la figura 25, se muestra que el número total de convulsiones del grupo de diazepam no tiene una diferencia significativa al grupo vehículo (agua, 100 μ L/10 g, v.o.), esto debido a que el vehículo presentó un tiempo de muerte de 327 ± 22.91 s (5.45 min), por lo que, el número de convulsiones tónicas, clónicas, tónico-clónicas y convulsiones totales fue reducido. Las diferentes dosis evaluadas del extracto HtEM (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, v.o.), también presentaron un número reducido de convulsiones y no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$). Sin embargo, todas las dosis evaluadas generaron un número total de convulsiones similar al grupo de diazepam.

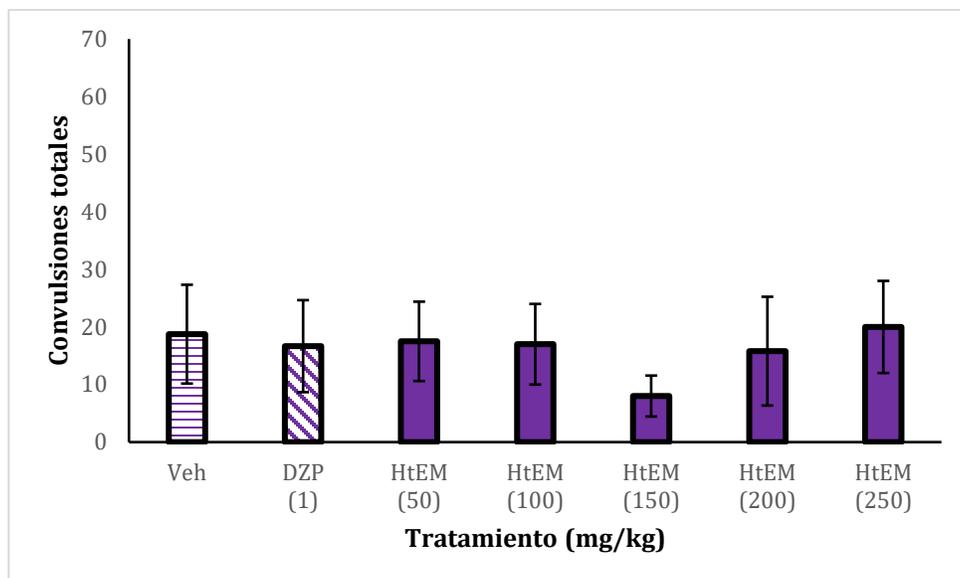


Figura 25. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. (HtEM) sobre el número de convulsiones totales de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Convulsiones inducidas con pentilentetrazol $\alpha=5\%$ ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, Diazepam; HtEM extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr.

En la figura 26, se muestra el número total de convulsiones tónicas presentadas por los diferentes grupos evaluados, el grupo de diazepam (1 mg/kg, *i.p.*) no presentó diferencia significativa ($p > 0.05$ vs vehículo), ninguna de las dosis evaluadas del extracto HtEM (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, *v.o.*) presentó diferencia significativa ($p > 0.05$ vs vehículo).

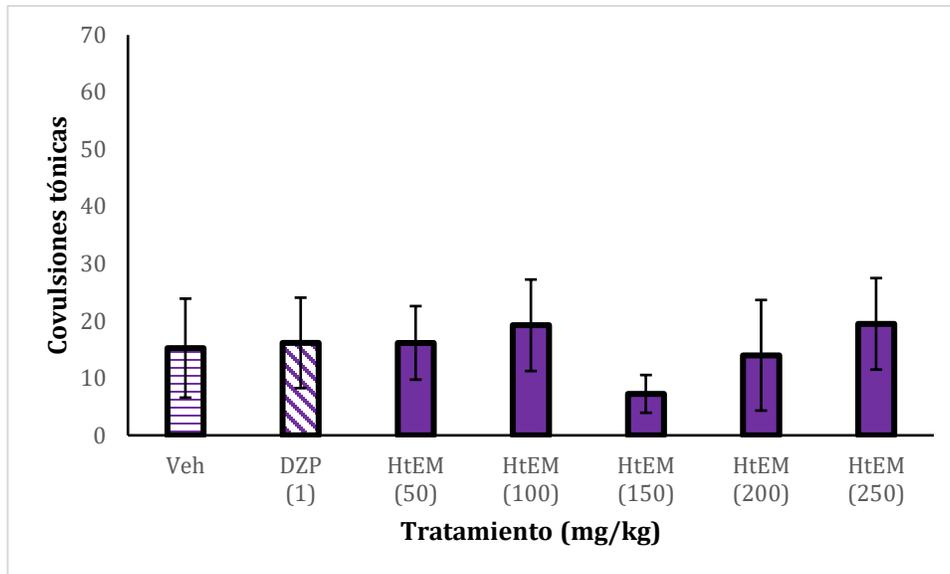


Figura 26. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. sobre el número de convulsiones tónicas de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Convulsiones inducidas con pentilentetrazol. $\alpha = 5\%$ ANOVA seguida de una prueba post hoc de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, Diazepam; HtEM extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr

En la figura 27, se muestra el número total de convulsiones clónicas presentadas por los diferentes grupos evaluados, el grupo de diazepam (1 mg/kg, *i.p.*) no presentó diferencia significativa ($p > 0.05$ vs vehículo), ninguna de las dosis evaluadas del extracto HtEM (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, *v.o.*) presentó diferencia significativa ($p > 0.05$ vs vehículo).

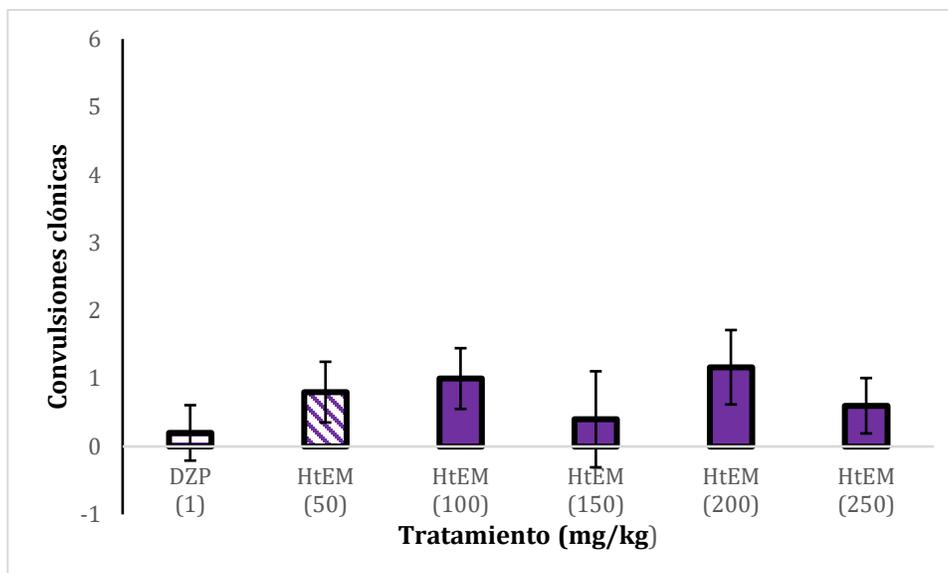


Figura 27. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. sobre el número de convulsiones clónicas de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Convulsiones inducidas con pentilentetrazol $\alpha= 5\%$ ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, Diazepam; HtEM extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr.

En la tabla 7 se muestra que el grupo de diazepam (1 mg/kg, *i.p.*) presentó una latencia de convulsiones aumentada con respecto del grupo vehículo, este resultado es significativo ($p < 0.001$) y característico de los fármacos anticonvulsivantes. La dosis de 150 mg/kg, *v.o.* del extracto HtEM también aumentó la latencia de las convulsiones con una significancia de $p < 0.05$ vs. el vehículo. En la misma tabla se observa que el grupo vehículo (agua, 100 μ L/10 g, *v.o.*) presentó un tiempo de muerte de 327 ± 22.91 s (5.45 min) y murió el 100% de los ratones, el grupo de diazepam protegió al 100% de los ratones de la muerte en un tiempo total de 30 min que dura la prueba ($p < 0.001$ vs vehículo), todas las dosis del extracto de *Heliocarpus terebinthinaceus* evaluadas (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, *v.o.*) tuvieron un efecto protector de la muerte en un 100% de los ratones ($p < 0.001$ vs vehículo).

Tabla 7. Efecto anticonvulsivo del extracto metanólico de *H. terebinthinaceus* sobre las convulsiones inducidas con Pentilentetrazol en ratones CD-1.

Tratamientos (mg/kg)	Latencia de convulsiones (s)	Protección contra la mortalidad (%)
Veh (100 µL/10 g)	54.00 ± 6.22	0.00
DZP (1.0)	131.75 ± 7.68 **	100.00**
HtEM (50)	66.33 ± 10.84	100.00**
HtEM (100)	71.16 ± 10.59	100.00**
HtEM (150)	93.00 ± 18.20 *	100.00**
HtEM (200)	66.20 ± 05.11	100.00**
HtEM (250)	66.40 ± 11.67	100.00**

Los datos se presentan como la media ± desviación estándar con $n=6$. * $p<0.05$, ** $p<0.001$ comparado con el vehículo usando un ANOVA y una prueba *post hoc* de Tukey. Veh, vehículo; DZP, diazepam; HtEM, extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus*.

9.6 Perfil químico de los extractos de *Heliocarpus terebinthinaceus*

Los extractos HtEH, HtEA y HtEM, fueron sometidos a cromatografía en capa fina (CCF), fase normal (FN) en diferentes sistemas como se muestra a continuación en las figuras siguientes.

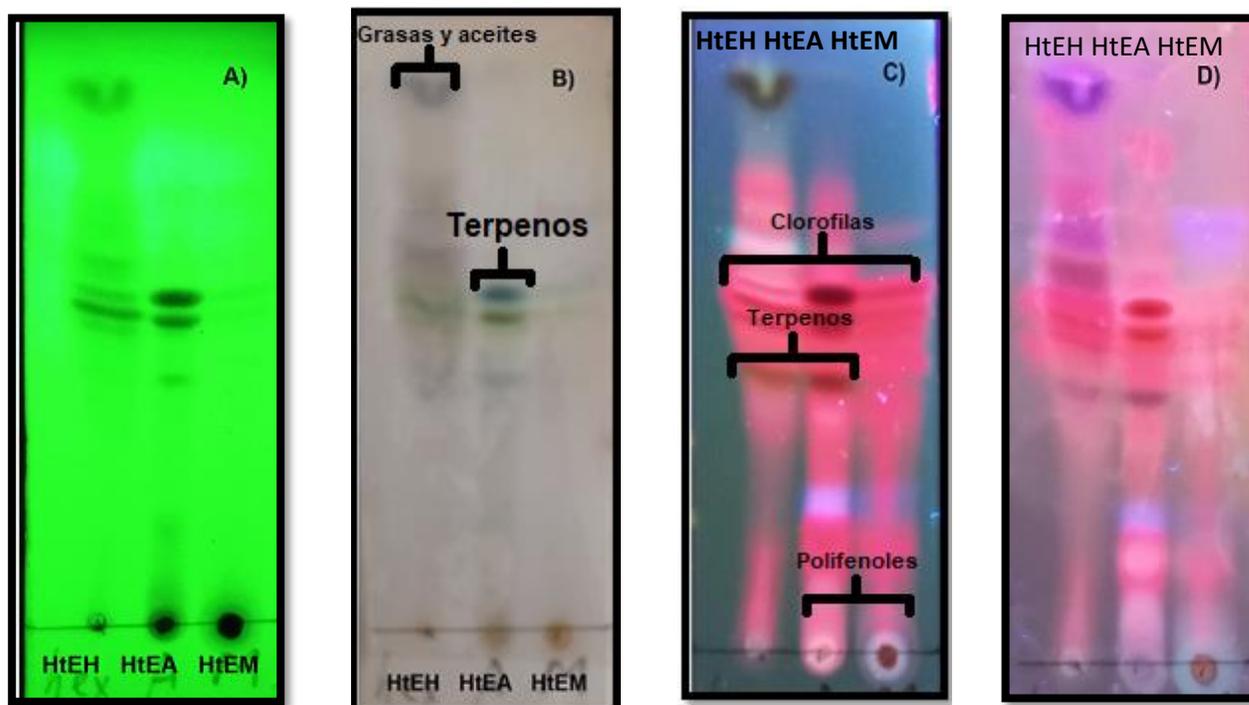


Figura 28. CCF, FN vista en luz UV de los Extractos HtEH, HtEA y HtEM, obtenidos de *Heliocarpus terebinthinaceus* Sistema 7-3 hexano/acetona. A) LUV onda corta 254 nm B) Revelada con reactivo de Komarovsky, LUV Onda corta 254 nm C) LUV onda larga a 365 nm D) Revelada con reactivo de Komarovsky, LUV onda larga 365 nm.

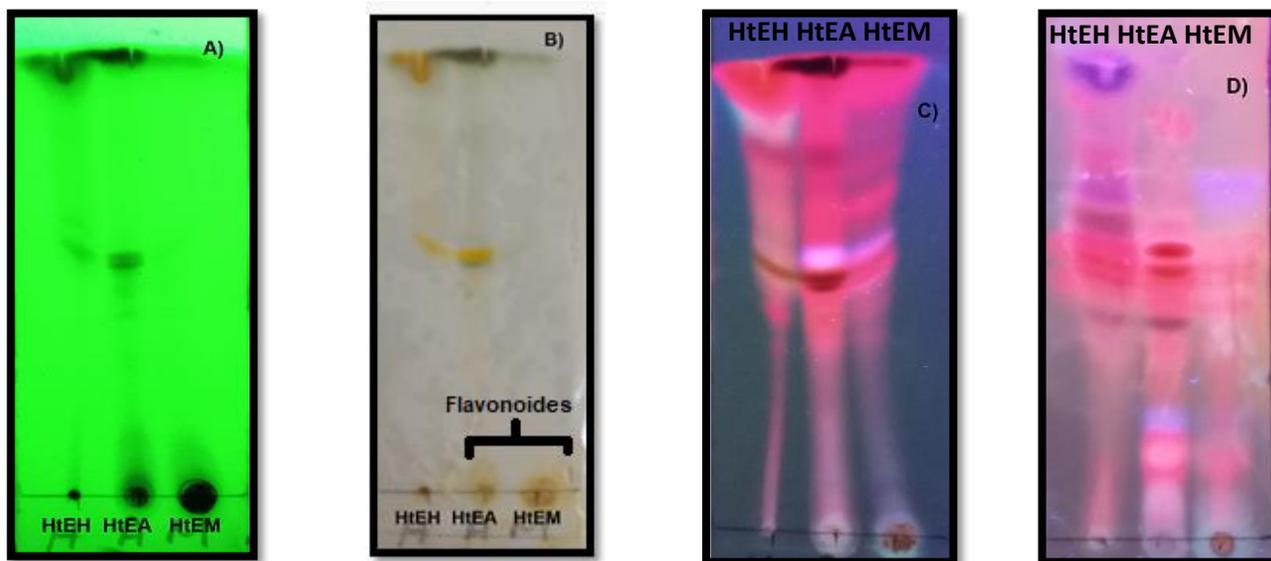


Figura 29. Cromatografía en capa fina FN vista en luz UV de los Extractos HtEH, HtEA y HtEM. Sistema 95-5 Diclorometano/Metanol. A) LUV onda corta 254 nm B) Revelada con reactivo de NP-PEG, LUV Onda corta 254 nm C) LUV onda larga a 365 nm D) Revelada con reactivo de NP-PEG, LUV onda larga 365 nm.

La cromatografía en capa fina reveló la presencia de compuesto de tipo terpenoide y flavonoide (Wagner y Bladt, 1996).

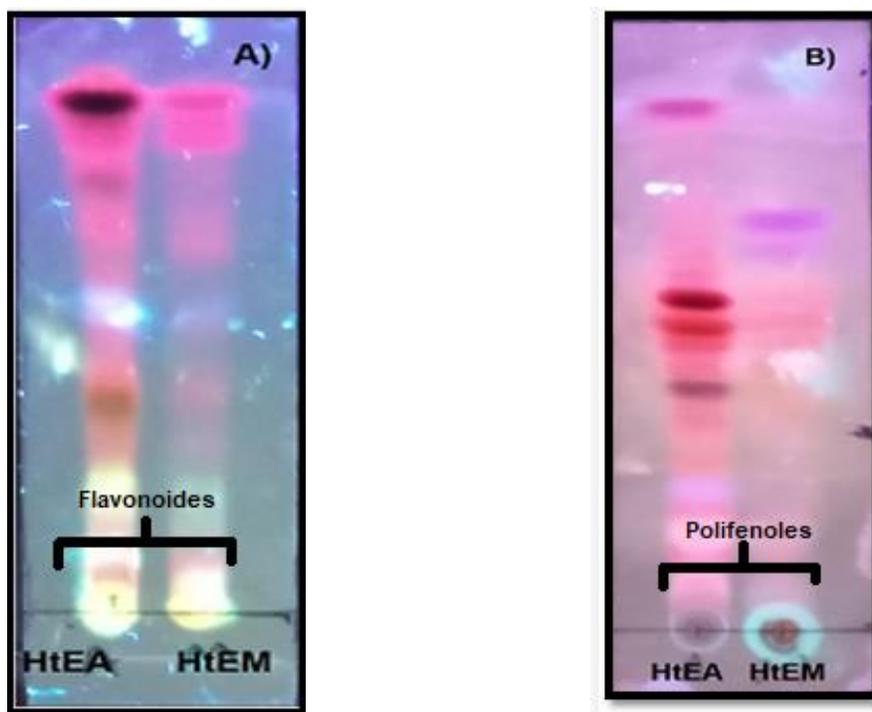


Figura 30. Cromatografía en capa fina FN vista en luz UV de los Extractos HtEA y HtEM. Sistema 95-5 diclorometano/acetona. A) LUV onda larga 365 nm, revelada con reactivo de NP-PEG. C) LUV onda larga a 365 nm, sistema 95-5 diclorometano/metanol, revelada con reactivo de NP-PEG.

9.7 Perfil químico en CCF del extracto HtEM.

Del proceso de cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 31 fracciones (como se muestra en las Figuras 31 a la 38), se analizaron mediante cromatografía en capa fina, de la 1-16 en fase normal, con un sistema 95:5 diclorometano-metanol y de la 17-31, en fase reversa con un sistema 50:50 agua-acetonitrilo, todas fueron observadas mediante luz UV de onda larga y corta, además fueron reveladas con NP-PEG (flavonoides) y reactivo de Komarovsky (terpenos). Se realizaron placas cromatográficas distribuyendo las fracciones de 8 en 8 por cada placa utilizando el extracto metanólico (HtEM) íntegro como referencia en ambos casos.

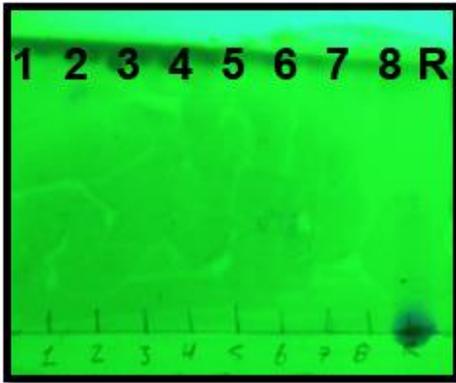


Figura 31. Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; fracción 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, Referencia (EM).

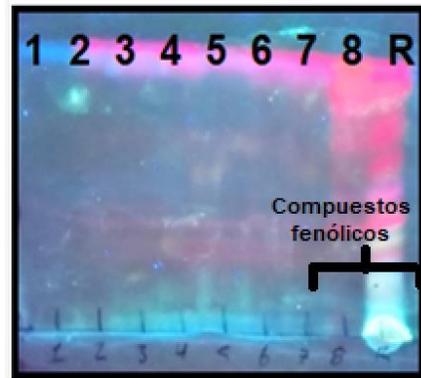


Figura 32. Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, Referencia (EM)

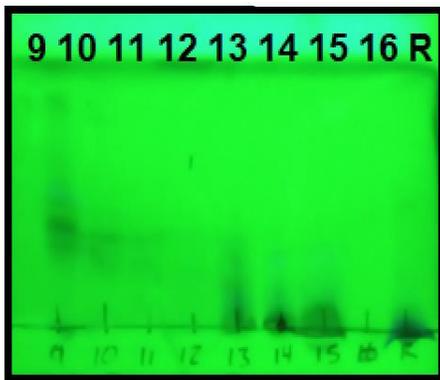


Figura 33. placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; fracción 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, Referencia (EM).

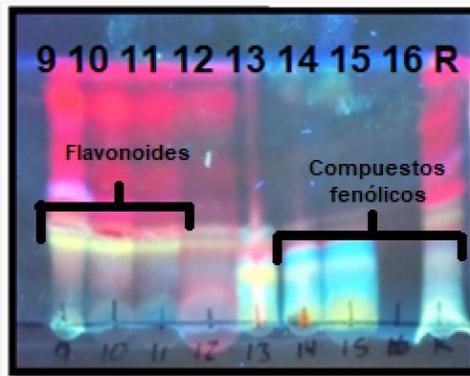


Figura 34. placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, Referencia (EM).

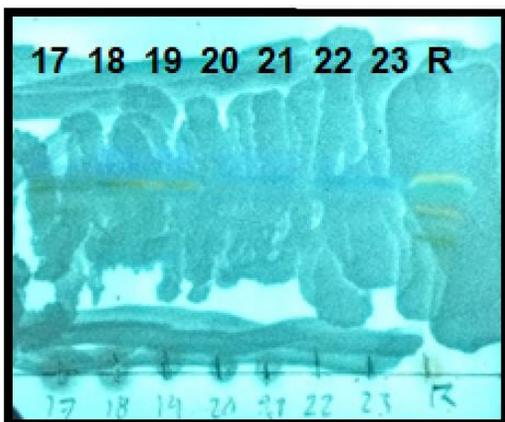


Figura 35. placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; fracción 17, 18, 19, 20, 21, 22, 21, Referencia (EM).

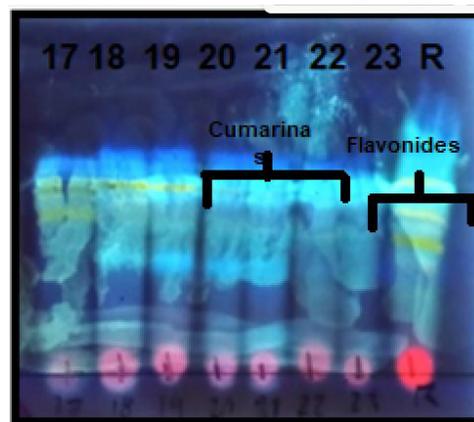


Figura 36. placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 17, 18, 19, 20, 21, 22, 21, Referencia (EM).

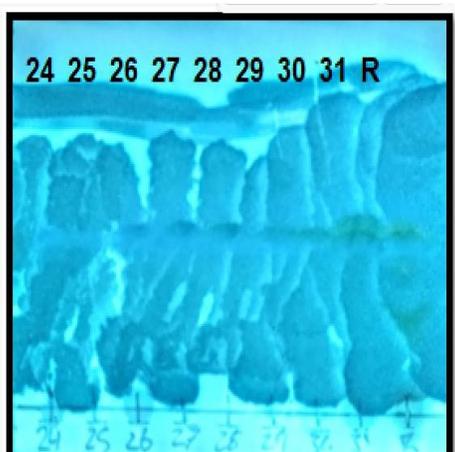


Figura 37. Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; fracción 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, L (lavado), Referencia (EM).

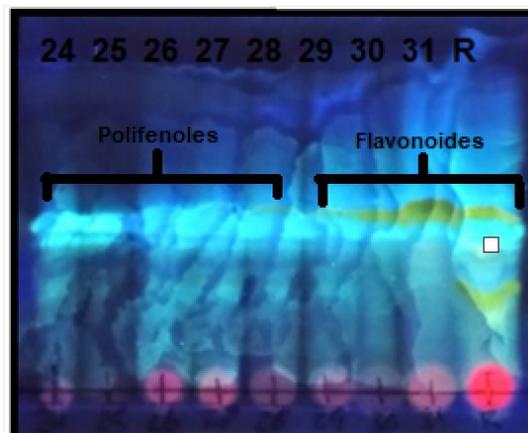


Figura 38. Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, L (lavado), Referencia (EM).

Después de analizar las placas se decidió hacer reuniones de las fracciones (Tabla 1), teniendo un total de seis reuniones; Reunión 1 (R1HEM1-8), Reunión 2 (R2HEM9-12), Reunión 3 (R3HEM13-16), Reunión 4 (R4HEM17-23), Reunión 5 (R5HEM24-27), Reunión 6 (R6HEM28-31). A continuación, se presentan las placas de dichas reuniones, las cuales fueron eluidas con un sistema 95:5 diclorometano-metanol, como se muestra en las Figuras 39 a la 44.

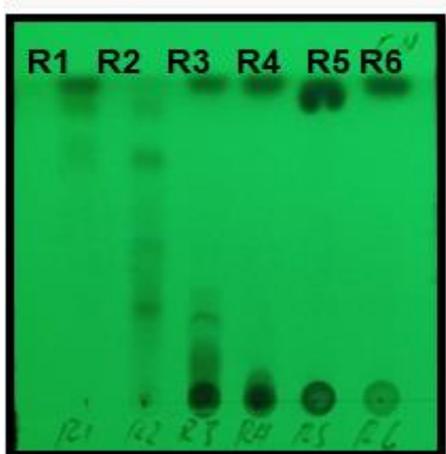


Figura 39. Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM).

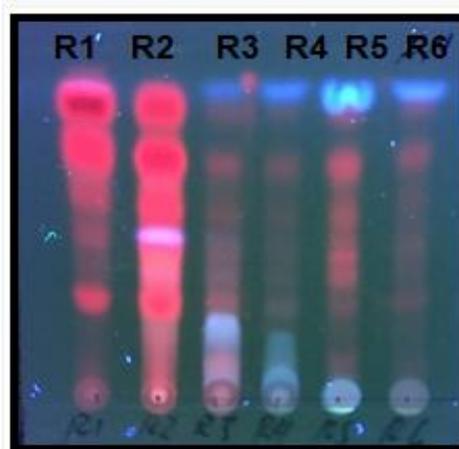


Figura 40. Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM).



Figura 41. Placa cromatográfica fase normal revelada con el reactivo Komarovsky (terpenos), orden izquierda-derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM)

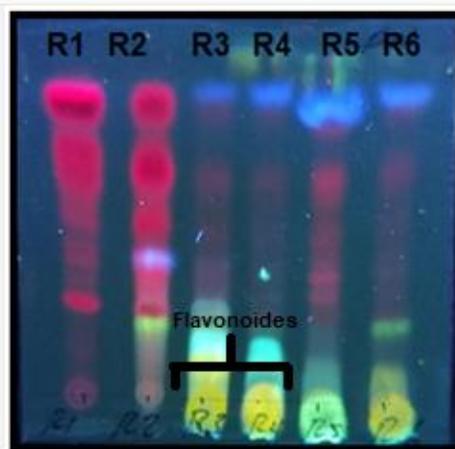


Figura 42. Placa cromatográfica fase normal revelada con NP-PEG (flavonoides), bajo luz de onda larga, orden izquierda- derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM)

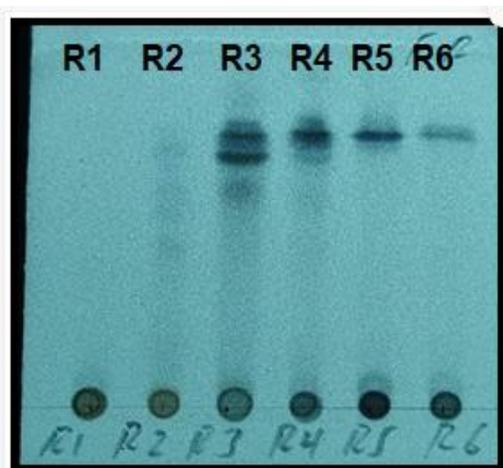


Figura 43. Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM).

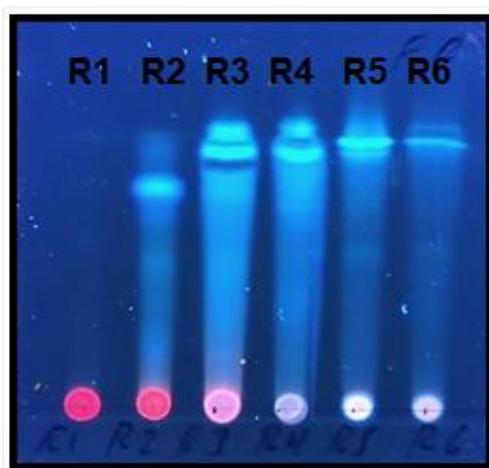


Figura 44. Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; R1, R2, R3, R4, R5, R6, Referencia (EM).

9.8 Análisis de HPLC

El cromatograma de HPLC de HtEM, se muestra en la Figura 45, el tiempo de retención y los espectros UV del extracto de metanol de las hojas de *Heliocarpus terebinthinaceus*, mostraron la presencia de flavonoides, en primera instancia se logró determinar al glucósido de quercetina (pico A) debido al tiempo de retención de 9.103 min y un espectro de UV con máximos de absorción $\lambda = 211.0, 254.5,$

349.4, 452.4 y 522.6nm; y verbascósido (pico B), con un tiempo de retención de 9.732 min y un espectro de UV con máximos de absorción $\lambda = 207.5, 330.3, 475.4, 517.8$ y 555.4 nm; estos productos naturales se identificaron por comparación con los datos de los compuestos estándar registrados en una base de datos de nuestro grupo de trabajo.

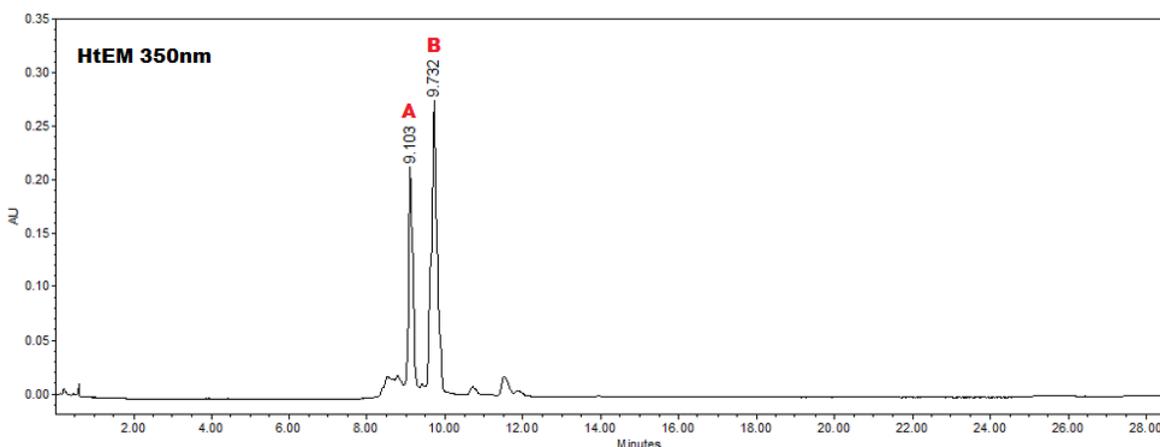
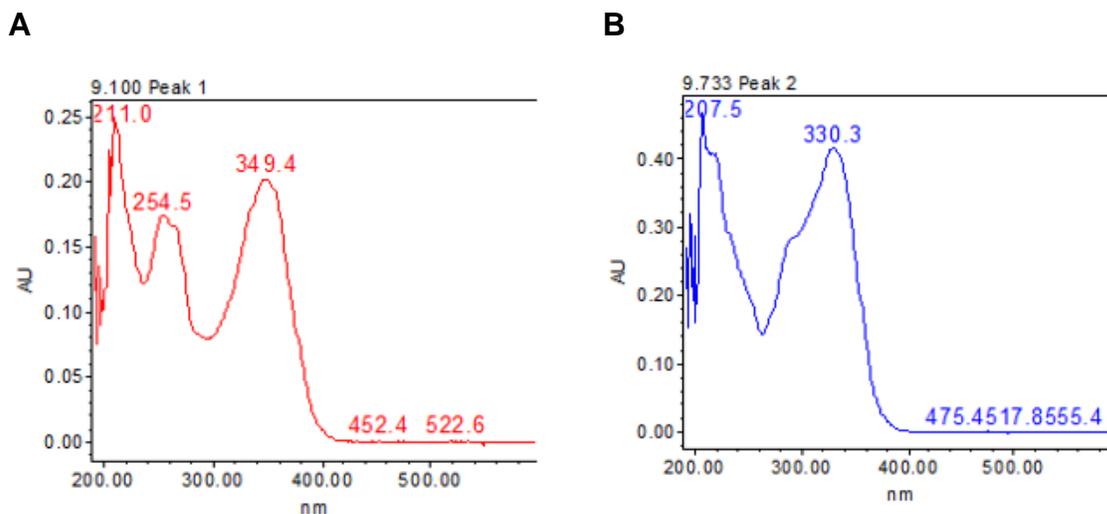
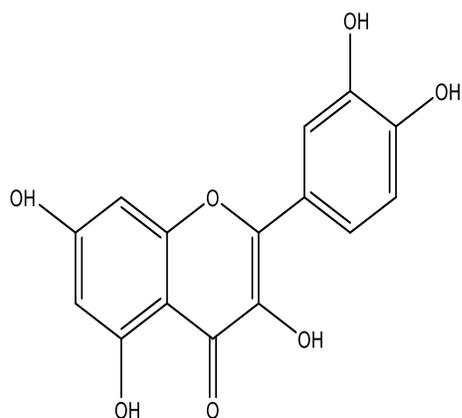
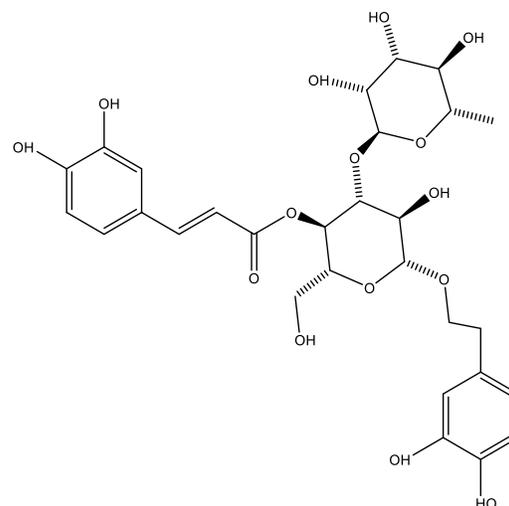


Figura 45. Cromatograma de HPLC correspondiente al extracto de metanol de las hojas de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM), mostrando la presencia de los compuestos glucósido de quercetina (Pico A) y verbascósido (pico B).





Quercetina



Verbascósido

10. Discusión

Las plantas medicinales han ocupado desde la antigüedad un lugar central en la terapéutica; inicialmente, por su proximidad natural al ser humano, se utilizaron siguiendo criterios magicorreligiosos, y paulatinamente durante siglos se fue adquiriendo un conocimiento empírico, por ensayo-error (García y Solís, 2016), en México hay un gran arraigo por el uso de la fitoterapia y dentro de la medicina tradicional mexicana se usa *Heliocarpus terebinthinaceus* para el tratamiento de enfermedades de la piel y gastrointestinales causadas por diferentes microorganismos (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009; Gual-Díaz y Diego-Pérez, 2018).

En el presente trabajo la administración oral del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM) a 50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, presentó un efecto antidepresivo por disminuir de forma significativa el tiempo de inmovilidad de los ratones en el modelo de nado forzado, al compararlo con el grupo vehículo ($p < 0.001$). De manera similar a los resultados encontrados en el presente trabajo, se ha publicado que a partir de *Heliocarpus terebinthinaceus* se aislaron flavonoides del grupo de los flavonoles, dentro de ellos se identificó el tilirósido, este compuesto químico ha sido reportado por tener un efecto sobre el sistema nervioso, presentando efecto antidepresivo (Chávez-Morales *et al.*, 2019), además de presentar efecto neuroprotector por inhibir las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6,

la producción de TNF- α en la microglía estimulada con LPS/IFN y a través de modular el factor nuclear eritroide 2 relacionado al factor 2 (NrF2) (Velagapudi, 2018).

La administración oral de las dosis 50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg de HtEM aumentaron el porcentaje del tiempo de permanencia de los ratones en los brazos abiertos del laberinto elevado en forma de cruz en comparación con el vehículo ($p < 0.001$), este efecto es similar presentado por el grupo del diazepam (1 mg/kg), lo cual nos indica que las diferentes dosis del extracto presentan un efecto ansiolítico. Al evaluar las mismas dosis del extracto HtEM en el modelo de campo abierto, todas las dosis disminuyeron la actividad motora espontánea, lo cual es indicativo de un efecto sedante, el cual es un efecto depresor del sistema nervioso central, estos resultados están en concordancia por los reportados por Aguirre-Hernández *et al.*, 2007 quienes encontraron un efecto ansiolítico y sedante en los extractos metanólico y hexánico de *Tilia americana* var. *mexicana*, una planta que pertenece a la misma Familia botánica.

En la prueba de potenciación del estado hipnótico de pentobarbital la administración de las dosis del HtEM (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, *v.o.*) no potenció el efecto del pentobarbital a una dosis subhipnótica (30 mg/kg, *i.p.*), por lo que los ratones no entraron en sueño inducido; es probable que el efecto potenciador de pentobarbital se pudiera observar a una dosis mayor de las que en este proyecto se evaluaron, sobre esta suposición existe una publicación de Islam *et al.*, 2021, en donde encontraron que la dosis de 400 mg/kg del extracto metanólico de *Tragia involucrata* L. (Euphorbiaceae) potencia el efecto hipnótico de pentobarbital (30 mg/kg, *i.p.*); en otro estudio se evaluó el extracto metanólico (250 y 500 mg/kg) de la corteza de *Xylocarpus moluccensis* (Meliaceae) en el modelo de potenciación del efecto hipnótico de pentobarbital, la dosis más baja no fue capaz de potenciar el efecto de pentobarbital (50 mg/kg *i.p.*) pero la dosis de 500 mg/kg si provocó un tiempo de sueño inducido (Sarker *et al.*, 2007).

Al evaluar el efecto anticonvulsivante del extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* en el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol (100 mg/kg, *i.p.*) los ratones del grupo vehículo (agua, 100 μ L/10 g, *v.o.*) presentaron un

tiempo de muerte de 327 ± 22.91 s (5.45 min), por lo que, el número de convulsiones tónicas, clónicas, tónico-clónicas y convulsiones totales fue reducido. El grupo de diazepam (1 mg/kg, *i.p.*) presentó una frecuencia baja de los parámetros de esas mismas convulsiones pero al realizar el análisis estadístico no se detecta diferencia significativa al compararlo con el grupo control ($p > 0.05$), todas las dosis evaluadas del extracto HtEM tuvieron un comportamiento similar al diazepam en los parámetros, presentando el número de convulsiones tónicas, clónicas, tónico-clónicas y convulsiones totales sin diferencia significativa al compararlos con el diazepam ($p > 0.05$); el grupo de diazepam protegió al 100% de los ratones de la muerte en la prueba que tiene una duración de 30 min, este resultado tiene diferencia significativa al compararla con el grupo vehículo ($p < 0.001$), de manera similar la administración de las dosis 50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, *v.o.* del extracto HtEM protegieron al 100% de los ratones ($p < 0.001$, *vs* vehículo) evidenciando un efecto anticonvulsivante. Cárdenas-Rodríguez *et al.*, 2014 encontraron que las dosis de 300 y 600 mg/kg de los extractos acuoso y metanólico de *Tilia americana* var. *mexicana*, una planta que pertenece a la misma familia de *Heliocarpus terebinthinaceus*, presentaron efecto anticonvulsivo en el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol (80 mg/kg, *i.p.*).

En el análisis de HPLC del extracto de HtEM se evidenció la presencia de compuestos del grupo de los fenilpropanoides, lográndose identificar al glucósido de quercetina y al verbascósido como los compuestos mayoritarios, los cuales pueden ser responsables de los efectos farmacológicos comprobados en el presente trabajo. Los flavonoides son un grupo de compuestos presentes en el metabolismo secundario, son los principales compuestos de los fenilpropanoides, estos compuestos están presentes en varias familias de plantas y se han descrito sus diferentes efectos farmacológicos dentro de los cuales destacan efecto depresor del sistema nervioso central; en una fracción enriquecida con flavonoides obtenida de *Tilia americana* var. *mexicana* se identificó la presencia de los flavonoides tilirósido, quercitrina, rutina, kaempferol y quercetina los cuales presentaron actividad ansiolítica en el modelo de LEC (Herrera-Ruiz *et al.*, 2008). Du *et al.*, 2002 encontraron que el flavonol glicosilado goodyerin presentó efecto

sedante al disminuir la actividad motora espontánea, potenciar el efecto hipnótico de pentobarbital y anticonvulsivante al disminuir la latencia de las convulsiones, la duración de las convulsiones y la muerte de los ratones. Se ha reportado que los flavonoides quercetina, rutina, isoquercetina identificados en los extractos acuoso y metanólico de *Tilia americana* var. *mexicana* presentan efecto anticonvulsivante (Cárdenas-Rodríguez *et al.*, 2014).

La quercetina es un flavonoide con un gran potencial antioxidante y neuroprotector (Khan *et al.*, 2019) y es uno de los flavonoides predominantes distribuido principalmente en las plantas comestibles (Brüll *et al.*, 2015), se ha reportado que presenta efecto neuroprotector en modelos *in vivo* e *in vitro* de desórdenes neurodegenerativos tales como deterioro cognitivo (Rishitha y Muthuraman, 2018), isquemia (Li *et al.*, 2016), enfermedad de Parkinson (El-Horany *et al.*, 2016), enfermedad de Huntington (Sandhir y Mehrotra, 2013) y enfermedad de Alzheimer (Khan *et al.*, 2019).

El verbascósido es un glucósido feniletanoide (2-(3,4-dihidroxifenil)etil-1-O- α -L-rhamnopyranosil-(1 \rightarrow 3)-(4-O-E-caffeoil)- β -D-glucopiranosido) derivado de la ruta del ácido Shikímico al cual se le han comprobado varios efectos farmacológicos tales como, antioxidante, antiinflamatorio, antineoplásico, capacidad de curar heridas (Alipieva *et al.*, 2014; Burgos *et al.*, 2020), en un estudio este compuesto, mejoró la disfunción cognitiva causada por el péptido β Amiloide al bloquear la deposición del amiloide y revirtiendo la función neuronal central al contrarrestar la citotoxicidad del amiloide (Young-Ji *et al.*, 2017); el verbascósido tiene efecto neuroprotector, en un estudio llevado a cabo con células PC12, el verbascósido tuvo un efecto protector de la apoptosis (Sheng *et al.*, 2002). Pu *et al.*, (2003) también demostraron que el verbascósido era capaz de inhibir la neurotoxicidad inducida por el MPP en las neuronas del granulo cerebeloso mediante la inhibición de las vías relacionadas con la apoptosis como la desactivación de la caspasa-3 y la expresión del fragmento proteolítico de la poli (ADP-ribosa) polimerasa.

11. Conclusiones

- El extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM) tiene efecto antidepresivo en el modelo de nado forzado.
- El extracto HtEM presenta efecto ansiolítico en el modelo de laberinto elevado en forma de cruz.
- El extracto metanólico de *Heliocarpus terebinthinaceus* (HtEM) mostró un efecto depresor del sistema nervioso en el modelo de campo abierto por reducir la actividad motora espontánea.
- Todas las dosis evaluadas del extracto HtEM (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, v.o.) presentaron un efecto neuroprotector al proteger al 100% de los ratones de la muerte en el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol.

12. Perspectivas

Dados los resultados expuestos en el presente proyecto, surge la idea de seguir la huella química existente en un gran número de especies de plantas medicinales, especialmente *Heliocarpus terebinthinaceus*, ya que puede que existan compuestos de gran interés farmacológico presentes en las diferentes fracciones obtenidas de los extractos hexánico, acetónico y metanólico. Por otro lado, sería interesante descubrir si los compuestos verbascósido y el glucósido de quercetina, son los responsables de las actividades demostradas en el presente proyecto.

13. Referencias bibliográficas

Aguirre-Hernández, E., Martínez, A.L., González-Trujano, M.E., Moreno, J., Vibrans, H., Soto-Hernández, M. (2007). Pharmacological evaluation of the anxiolytic and sedative effects of *Tilia americana* L. var. *mexicana* in mice. *Journal Ethnopharmacology*. 109, 140–145. doi: 10.1016/j.jep.2006.07.017.

Alipieva, K., Korkina, L., Orhan, I.E., Georgiev, M.I. (2014). Verbascoside—a review of its occurrence, (bio)synthesis and pharmacological significance. *Biotechnology advances*. 1. 32 (6): 1065-176. doi: 10.1016/j.biotechadv.2014.07.001.

American Psychiatric Association, 1994; Sierra, J. C., Ortega, V., & Zubeidat, I. (2003). Ansiedad, angustia y estrés: tres conceptos a diferenciar. *Revista mal-estar e subjetividade*, 3(1), 10-59.

Archer, J, (1973). Tests for emotionality in rats and mice: A review. *Animal Behaviour*, 21(2), 205-235. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472\(73\)80065-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472(73)80065-X).

Baños DJ y Farré AM, (2002). Principios de Farmacología clínica. 1th ed. España; Masson.

Bernaras, E., Jaureguizar, J., & Garaigordobil, M. (2019). Child and adolescent depression: A review of theories, evaluation instruments, prevention programs, and treatments.

Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). Calahuate. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=helio carpus-donnellsmithii> Fecha de acceso: 04 ene 2022.

Bourin, M, (2015). Animal models for screening anxiolytic-like drugs: a perspective *Dialogues in clinical neuroscience*, 17(3), 295-303.

Brüll, V., Burak, C., Sto_el-Wagner, B., Wol_ram, S., Nickenig, G., Müller, C., Langguth, P., Alteheld, B., Fimmers, R., Naaf, S. (2015). Effects of a quercetin-rich onion skin extract on 24 h ambulatory blood pressure and endothelial function in overweight-to-obese patients with (pre-) hypertension: A randomized double-blinded placebo-controlled cross-over trial. *The British Journal of Nutrition*. 114, 1263–1277. doi: 10.1017/S0007114515002950.

Burgos, C., Muñoz-Mingarro, D., Navarro, I., Martín-Cordero, C., Acero, N. (2020). Neuroprotective Potential of Verbascoside Isolated from *Acanthus mollis* L. Leaves through Its Enzymatic Inhibition and Free Radical Scavenging Ability. *Antioxidants*. 9. 1207. doi:10.3390/antiox9121207.

Can, A., Dao, D.T., Arad, M., Terrillion, C.E., Piantadosi, S.C., Gould, T.D. (2012). The Mouse Forced Swim Test. *Journal of Visualized Experiments*. (59), e3638. doi : 10.3791/3638

Cárdenas-Rodríguez, N., González-Trujano, M.E., Aguirre-Hernández, E., Ruíz-García, M., Sampieri, A., Coballase-Urrutia, E., Carmona-Aparicio, L. (2014). Anticonvulsant and antioxidant effects of *Tilia americana* var. *mexicana* and flavonoids constituents in the pentylenetetrazole-induced seizures. *Oxid Med Cell Longev*. 2014:329172. doi: 10.1155/2014/329172.

Carballo, M. M., Estudillo, C. P., Meraz, L. L., Parrazal, L. B., & Valle, C. M. (2019). Trastornos de ansiedad: revisión bibliográfica de la perspectiva actual. *Eneurobiología*, 10(24).

Cervo y Samanin, (1987)., citado en: Kallman, M.J. (2016) Antidepressant activity. En: *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. 4th Ed. Hock, F.J. Editor. Springer International Publishing. Switzerland. Pp. 1450-1452

Corea Del Cid, M. T. (2021). La depresión y su impacto en la salud pública. *Rev. méd. hondur*, 47-52.**Chávez-Morales, Y.,** Jiménez-Ferrer, E., Martínez-Hernández, G. B., Tortoriello, J., Román-Ramos, R., Zamilpa, A., & Herrera-Ruiz, M. (2019). Effect of Standardized Fractions and Tiliroside from Leaves of *Tilia americana* on Depression Tests in Mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 18(4), 1931–1946. 10.22037/ijpr.2019.1100883.

Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), "*Heliocarpus terebinthinaceus*" (DC.) Hochr., ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En "Portal de Datos Abiertos UNAM" (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México

Dechent, C. (2008). Depresión geriátrica y trastornos cognitivos. *Revista Hospital Clínico Universidad de Chile*, 19, 339-46.

Delgado, E. C., De la Cera, D. X., Lara, M. F., & Arias, R. M. (2021). Generalidades sobre el trastorno de ansiedad.

Dirección General de Repositorios Universitarios, UNAM. 2022. Sitio Web Dirección General de Repositorios Universitarios UNAM. México. Disponible en <https://dgru.unam.mx> [Fecha de recuperación: 2022-06-13].

Du, X.M., Sun, N.Y., Takizawa, N., Guo, Y.T., Shoyama, Y. (2002). Sedative and anticonvulsant activities of goodyerin, a flavonol glycoside from *Goodyera schlechtendaliana*. **Phytotherapy research**. 16:261-263. doi: 10.1002/ptr.862

El-Horany, H.E., El-latif, R.N., ElBatsh, M.M., Emam, M.N. (2016). Ameliorative effect of quercetin on neurochemical and behavioral deficits in rotenone rat model of Parkinson's disease: Modulating autophagy (quercetin on experimental Parkinson's disease). *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 30, 360–369.

Etchebarne, I., Penedo, J. M. G., Roussos, A. J., Bogiaizian, D., Bunge, E. L., Challú, L., ... & Westra, H. A. (2019). Nuevos desarrollos en el tratamiento del Trastorno de Ansiedad Generalizada: Abordajes psicoterapéuticos, farmacológicos y debates actuales. Miño y Dávila.

Fajemiroye, J. O., da Silva, D. M., de Oliveira, D. R., & Costa, E. A. (2016). Tratamiento de la ansiedad y la depresión: plantas medicinales en retrospectiva. *Farmacología fundamental y clínica*, 30(3), 198-215.

Fernández, R. (2006). Aislamiento y caracterización del tilirósido a partir de las semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus* (cuetla). Licenciatura. Ingeniero en alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Huajuapán de León, Oaxaca, México. 59 págs.

File, S. E., Kenny, P. J., y Cheeta, S, (2000). The Role of the Dorsal Hippocampal Serotonergic and Cholinergic Systems in the Modulation of Anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 66(1), 65-72. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S00913057\(00\)00198-2](http://dx.doi.org/10.1016/S00913057(00)00198-2).

Flórez J. Armijo JA y Mediavilla A, (2005). *Farmacología Humana*. 4th ed. España: Masson. **García**, E.C., **Solís**, I. M. (Eds.). (2016). *Manual de fitoterapia*. 2a Edición. **Elsevier Health Sciences**. Barcelona, España.

García-Peñas, J.J., Fournier-Del Castillo, M.C., Domínguez-Carral, J. (2014). Epilepsia y cognición: el papel de los fármacos antiepilépticos. *Revista de Neurología*; 58 (Supl 1): S37-42.

González, R., Parra-Bolaños, N. (2023). Neuropsicología de los trastornos de ansiedad. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(1), 5206-5221.

Gual-Díaz, M., Diego-Pérez, N. (2018). Diversidad de las subfamilias Grewioideae y Tilioideae (Malvaceae) en Guerrero, México. *Acta Botánica Mexicana*. 122:33-96.

Herrera-Ruiz, M., Román-Ramos, R., Zamilpa, A., Tortoriello, J., Jiménez-Ferrer, J. E. (2008). Flavonoids from *Tilia americana* with anxiolytic activity in plus maze test. *Journal of Ethnopharmacology*, 118(2), 312-317.

Huaranga-Castro, F. M. (2020). Clasificación y diagnóstico de epilepsia. *REMUS-Revista Estudiantil de Medicina de la Universidad de Sonora*, 59-60.

Islam, M.S., Sana, S., Haque, M.E., Rahman, S.M., Samad, A., Al Noman, A., Alam, R., Rana, S., Meem, R.I., Mondol, D., Islam, M.S., Islam, M.T., Mazumder, K. (2021). Methanol, ethyl acetate and n-hexane extracts of *Tragia involucreta* L. leaves exhibit anxiolytic, sedative and analgesic activity in Swiss albino mice. *Heliyon*. 7(1):e05814. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05814.

Kallman, M.J. (2016) Tests for Anxiolytic Activity. En: *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. 4th Ed. Hock, F.J. Editor. Springer International Publishing. Switzerland.

Khan, H., Ullah, H., Aschner, M., Cheang, W.S., Akkol, E.K. (2019). Neuroprotective Effects of Quercetin in Alzheimer's Disease. *Biomolecules*. 10(1):59. doi: 10.3390/biom10010059.

Katz, G., Lazcano-Ponce, E., Madrigal, E. (2017). La salud mental en el ámbito poblacional: la utopía de la psiquiatría social en países de bajos ingresos. doi.org/10.21149/8860.

Li, X., Wang, H., Gao, Y., Li, L., Tang, C., Wen, G., Zhou, Y., Zhou, M., Mao, L., Fan, Y. (2016). Protective effects of quercetin on mitochondrial biogenesis in experimental traumatic brain injury via the Nrf2 signaling pathway. *PLoS ONE*. 11, e0164237.

Lister, R, (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, 92(2), 180-185. doi: 10.1007/bf00177912.

López, C.A., Moreno, R.L., Villagrasa, S.V. (2006). Manual de farmacología., 1a edición. **Elsevier.** Madrid, España.

Luna, M, Hamana Z, L, Colmenares, YC, & Maestre, CA. (2001). Ansiedad y Depresión. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 20(2), 111-122. Recuperado en 02 de noviembre de 2022, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S079802642001000200002&lng=es&tlng=es.

Marks, 1986; Sierra, J. C., Ortega, V., y Zubeidat, I. (2003). Ansiedad, angustia y estrés: tres conceptos a diferenciar. *Revista mal-estar e subjetividade*, 3(1), 10-59.

McArthur, R.; Borsini, F. (2006). Animal models of depression in drug discovery: A historical perspective. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 84, 436-452, doi:https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.06.005.

Michael, T., Zetsche, U., Margraf, J., (2007). Epidemiology of anxiety disorders. *Epidemiology and Psychopharmacology Psychiatry* 6, 136–142

Nowak, R. (2003). Separación y cuantificación de tilirósido de extractos de plantas por SPE / RP-HPLC. *Biología farmacéutica*, 41 (8), 627-630.

Olmos, M., Varela, D., y Klein, F. (2019). Enfoque actual de la analgesia, sedación y el delirium en Cuidados Críticos. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 30(2), 126-139.

Organización Panamericana de la Salud. (2018). La carga de los trastornos mentales en la Región de las Américas. OPS.

Organización Mundial de la Salud. (2013). *Plan de acción sobre salud mental 2013-2020*. Ginebra, Suiza. ISBN 9789243506029.

Organización Mundial de la Salud. (28 de noviembre de 2018). Trastornos mentales. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders> (Revisado el 20 de mayo de 2021).

Organización Mundial de la Salud, (2019). Depresión. Recuperado de: <https://www.who.int/topics/depression/es/> (Revisado 20 septiembre 2021).

Organización Mundial de la Salud. (20 de junio de 2019). Epilepsia. Recuperado de: https://www.who.int/es/news-room/fact_sheets/detail/epilepsy (Revisado el 20 de mayo de 2021).

Padilla, J. A. L., Cortés, J. A. G., Villalva, Á. F., y Betancourt, J. S. (2022). Comparación de los niveles de ansiedad y depresión en los estados de Hidalgo, México y Baja California durante la pandemia de COVID-19. *Psicología y Salud*, 32(2), 305-312.

Paredes-Aragón, E., Ruiz-García, R., y Burneo, J. G. (2023). Depresión en pacientes con epilepsia. Conceptos fisiopatológicos, clínicos y estrategias terapéuticas. *Rev. neurol.(Ed. impr.)*, 137-146.

Pérez-Calix, E. (2009). Flora del bajío y regiones adyacentes: Tiliaceae. *Instituto de Ecología, AC Centro regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán.*

Pereno, G. L. (2010). Fisiopatología de la epilepsia del lóbulo temporal: revisión del proceso de muerte neuronal a la neuroplasticidad. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 2(1), 46-57.

Porsolt, R., Le Pichon, M., Jalfre, M. 1991,1977, 1978., citado en: Kallman, M.J. (2016) Antidepressant activity. En: *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. 4th Ed. Hock, F.J. Editor. Springer International Publishing. Switzerland. Pp1450-1452

Prut, L., y Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463 (1–3), 333. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X).

Pu, X., Song, Z., Li, Y., Tu, P., Li, H. (2003). Acteoside from *Cistanche salsa* inhibits apoptosis by 1-methyl-4-phenylpyridinium ion in cerebellar granule neurons. *Planta Medica*. 69, 65–66.

Ramos-Morales, F. R., Correa-Basurto, J., Saavedra-Vélez, M., Acosta-Hernández, M. E., Gasca-Pérez, E., Pérez-Palacios, A., & Trujillo-Ferrara, J. (2012). Modelo PTZ: un screening primario para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad anticonvulsivante. *Archivos de Neurociencias*, 17(1), 45-48.

Rishitha, N., Muthuraman, A. (2018). Therapeutic evaluation of solid lipid nanoparticle of quercetin in pentylenetetrazole induced cognitive impairment of zebrafish. *Life Science*. 199, 80–87.

Rojas, B. F. (2006). Aislamiento y caracterización del tilirósido a partir de las semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus* (cuetla). *Ingeniero en alimentos* (Doctoral dissertation, Tesis, Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajuapán De León, Oaxaca, México).

Rodgers, RJ, Cao, B.-J., Dalvi, A. y Holmes, A. (1997). Modelos animales de ansiedad: una perspectiva etológica. *Revista Brasileña de Investigaciones Médicas y Biológicas*, 30 (3), 289-304. doi.org/10.1590/S0100879X1997000300002.

Sandhir, R., Mehrotra, A. (2013). Quercetin supplementation is effective in improving mitochondrial dysfunctions induced by 3-nitropropionic acid: Implications in Huntington's disease. *Biochim. Et Biophys. Acta*. 1832, 421–430.

Sarker, S.D., Uddin, S.J., Shilpi, J.A., Rouf, R., Ferdous, M.E., Nahar, L. (2007). Neuropharmacological properties of *Xylocarpus moluccensis*. *Fitoterapia*. 78(2):107-11. doi: 10.1016/j.fitote.2006.09.029.

Sheng, G.Q., Zhang, J.R., Pu, X.P., Ma, J., Li, C.L. (2002). Protective effect of verbascoside on 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced neurotoxicity in PC12 cells. *European Journal of Pharmacology*. 451:119–24. doi: 10.1016/s0014-2999(02)02240-9. PMID: 12231380

Targas, E.M. (2014). Capítulo 3. Evolución de la terapéutica medicamentosa de las epilepsias. En: Targas, E.M., Contreras-Caicedo, G., Ríos-Pohl, L. Tratamiento Farmacológico de las Epilepsias. Leitura Médica Ltda. Sao Paolo, Brasil.

Tsao, R., y Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B*, 812(1-2), 85-99.

Vázquez, J. M. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus* (Doctoral dissertation, Tesis, Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajuapán De León, Oaxaca, México).

Velagapudi, R., El-Bakoush, A., Olajide, O.A. (2018). Activation of nrf2 pathway contributes to neuroprotection by the dietary flavonoid tiliroside. *Molecular neurobiology*. 55 (10), 8103-8123. doi.org/10.1007/s12035-018-0975-2.

Wagner, H., y Bladt, S. (1996). Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. **Springer Science & Business Media**.

Walsh, R., y Cummins, R, (1975). Mechanisms mediating the production of environmentally induced brain changes. . *Psychological Bulletin.*, 82, 986-1000.

Young-Ji, S., Muh-Hwan, S., Hang-Ching, L., Chi-Rei, W. (2017). Acteoside and Isoacteoside protect amyloid β peptide induced cytotoxicity, cognitive deficit and neurochemical disturbances *in vitro* and *in vivo*. *International Journal of Molecular Science*. 18. 895. doi:10.3390/ijms18040895

Zhang, Z.J. (2004). Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. *Life Science*, 75, 1659-1699, doi:10.1016/j.lfs.2004.04.014

ANEXO





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD
DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología, Programa Educativo de Calidad.

Cuernavaca, Mor., 03 de mayo del 2024

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. DEYANEIRA GUADARRAMA BELTRÁN**, con el título del trabajo: **Evaluación del efecto del extracto metanólico de las partes aéreas de *Helicarpus terebinthinaceus* sobre el sistema nervioso en modelos *in vivo*.**

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.

Atentamente

Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: M. EN. M.R. N JUAN CARLOS JUÁREZ DELGADO

SECRETARIO: DRA. NAYELI MONTERROSAS BRISSON

VOCAL: DR. DANTE AVILES MONTES

SUPLENTE: DRA. ADRIANA VALLADARES MÉNDEZ

SUPLENTE: DR. MANASES GONZÁLEZ CORTÁZAR



Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209, Unidad Biomédica,
Tel. (777) 329 7047, 329 7000, Ext. 3527 / titulaciones.biologia@uaem.mx

UAEM
RECTORÍA
2023-2029



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

ADRIANA VALLADARES MENDEZ | Fecha:2024-05-03 11:59:16 | FIRMANTE

sP3P/XAyWx9jZTv8dVEtrS/SirLNR+UHeTJsU/0OdWfP1yPZMree6RmfBiQJKbbcje+3ijhcuFnRpOc+JUyHlWxykvHqXcZbh0FNLEGOx11eFQw3AZ4Y8vF6QPc4gAd63JY+ARlwo ml+UIQNJWBKFPkqyvdUAZ3ol6SDpzf0mf5LFKCBzYh5AIIQIGuZFHnr3Omw2dtY9Hlz5O5UKcTC+MhdsWMhTKVzmzkCWEcgh6K7rl+CyFQbAS86bSKE832sMgb3qDhpKq +Pbkj0ErfK8A2xHRMQB7E7hdExh12D0ZNOvZe1EZwu0XmqYLC5jr+dyAFDFQ14rq1T1DZg==

DANTE AVILES MONTES | Fecha:2024-05-03 12:08:24 | FIRMANTE

FTzj2Q3Aj5ZXCBEs99EiYK11dAK5RdSC25mybwrCfzN9RTFF69mlwKw7KYDQ0OLXyy8JORLrIzERffF57+rAECGDd98C5RlcfgsZVgyxuqW5+85kqKBHSLjWkh8uqDBz3Cg2 SrzOkixZNHHEujlxz47orJiQ3zxrTnZOY8CxAm7LdkjF9YqJklrvLE5JCLqLEz9vaOwFGqxixj/Ggz7fxEjNHQl82Rp83C9maPiBdBjOtdMSchZMbdie6ACUAQ+ZizujmM7ImKABi NPBGuhqcf+riSbNatmpBrv8KwHGgftHz2m7SbVnb6L067Jl2PSZ6aqrzC+D++plifj1K+g==

NAYELI MONTERROSAS BRISSON | Fecha:2024-05-03 12:49:27 | FIRMANTE

i64k6mKUOk72XQayJwtd9f2nHtwpVvgQ791DiBjhbCsPxZ5RyMYTWwH74aKkWhK9gtRaZAYSCD8q5B9PqJKGhy/NPICtNB08/ixOQH9imnN3wFUduce/E74H1ykdi66/doEyUg R7kKfJGwwJbZWB39cJ2il4WF218Jw23OSPinswyLJzcZHYwWn2NwSgWNz5W6NdQP10nEZvbMOXz4NFLGcuTaFZXZFoaq1ovTZePQgheDfhJTy9FbTTjwJS5geQ1U7V4IGs KbHmJZiFAX3+PGMgikAjd/yzYoXiEzabwYX3oh0AeL0x8QCQMfTutil67pUYeyP+XdoKO3cpXMg==

MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR | Fecha:2024-05-03 16:31:10 | FIRMANTE

Osg6/ICVXAMo4ynvllt1md8HnaiX1FsnTovbNWpgHkQhjPeeggaKEPdCxWsq5TXNX2RAfbGvCDM1E8wHpbmIFKa6PEBJWK+xCuNm0bIC3pcVv6EbpF0jW3PXyzeAVPoAsr5fy HJL77x9InfOvHBFJT4E1mRqQLrqeyfmSllqQ5bx49lyJggGIYZL+OmDTlIpWdY7GtYdk7CuBljoQxI2VDieACKwIzmxJYqjsShT2a0rq125LcYiJfu76qlZ+1oPc13GuH+Tf542sEsf+W OKw10J7YIWyMwLyb9WM2wGrACzY8Gq+M05S6tKWujt4t5IFS09BDKP1+IS2qzCI1g==

JUAN CARLOS JUAREZ DELGADO | Fecha:2024-05-04 19:10:14 | FIRMANTE

GoUOIUovgmtkkw1Kqpi3U1MQgAk1lepTTdTadNVF4v4pwxz3YKieoDd1enuK48VVdegDI0aX1mS8eObsoiRrqrEP7fyxtijHnr4mWipciPFLBtuFDfuAqG3MbwVvKLT7tZogmtl4l/XuU XFGDBOD32KMZ+T/zzshn+JNPRReb05aN00bHLVd3ygtVvalg/Hn5fW4ag9liBBVzR/FvYtFgalsMcMQ+H0ksjdHJfn6qtf4NaE11QIDJGLKc+0yNkIdYliPBzO7RM2W/dR16sG3gvU RYmIWlok8FqUMtcNSQvUXaQpxt/7MXvLaZxytafDgx+EF37OGvLJdTgYpMpWmWcA==

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



4o1vt3pKq

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/TBMG6dw8HzP8FakYITgA63dkm0xly17G>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029