

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Evaluación de la actividad neuroprotectora de plantas de uso tradicional en Guatemala en un modelo de pérdida de memoria inducida por escopolamina en ratones CD-1**

**Informe de Tesis**

**Presentado por:**

**David Morales Rodas**

**Para optar al título de**

**Químico Farmacéutico**

**Guatemala, 11 de abril del 2021**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Evaluación de la actividad neuroprotectora de plantas de uso tradicional en Guatemala en un modelo de pérdida de memoria inducida por escopolamina en ratones CD-1**

**David Morales Rodas**

**Químico Farmacéutico**

**Guatemala, 11 de abril del 2021**

**Nómina de los Integrantes de Junta Directiva.**

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto

Decano

Doctor Juan Francisco Pérez Sabino

Vocal Primero

Dr. Roberto Enrique Flores Arzo

Vocal Segundo

Licenciado Carlos Manuel Maldonado Aguilera

Vocal Tercero

Bachiller Giovani Rafael Funes Tovar

Vocal Cuarto

Bachiller Carol Merari Caceros Castañeda

Vocal Quinto

Licenciada Miriam Roxana Marroquín Leiva

Secretaria

## **Dedicatoria y Agradecimientos**

### **Institucionales**

Se agradece al Bioterio Amarilis Saravia y al Laboratorio de farmacología Experimental por el financiamiento de la presente Tesis.

- Al Bioterio Amarilis Saravia por los animales de laboratorio utilizados
- Al Laboratorio de Farmacología experimental por las instalaciones de laboratorio utilizadas, el modelo de Laberinto acuático Morris, y todos los materiales descritos en el presente documento.

Se agradece al laboratorio de productos naturales LIPRONAT por los extractos de *Tagetes lucida* Cav, *Valeriana prionophylla* Standl y *Wigandia urens* Ruiz & Pav. Kunth.

### **Personales**

Le agradezco a mis amados padres por su apoyo incondicional, tanto económico como emocional.

Le agradezco mi profesor el Dr. Rodrigo Castañeda por regresar a Guatemala, por su paciencia, y por ser la influencia que me hizo orbitar en el tema de la investigación científica.

Le agradezco a mis compañeros de Lab: Agustín, Diana, Carol y Cesar

## Índice

<b>Resumen</b> .....	1
<b>1. Introducción</b> .....	2
<b>2. Antecedentes</b> .....	4
<b>2.1. Memoria y Neurodegeneración</b> .....	4
2.1.1. Definiciones.....	4
2.1.2. Epidemiología y factores de riesgo.....	4
2.1.2.1. Demencia.....	5
2.1.3. Epidemiología internacional .....	6
2.1.4. Epidemiología de Guatemala.....	7
2.1.5. Fisiopatología .....	8
2.1.6. Modelos <i>in vivo</i> .....	12
2.1.7. Marcadores moleculares .....	15
<b>2.2. Etnofarmacología de neurodegeneración</b> .....	15
2.2.1. Enfermedades neurológicas en medicina tradicional. ....	16
<b>2.2.2. <i>Tagetes lucida</i> Cav.</b> .....	17
2.2.2.1. Aspectos botánicos .....	17
2.2.2.2. Distribución .....	17
2.2.2.3. Usos tradicionales.....	18
2.2.2.4. Actividad Reportada .....	19
2.2.2.5. Droga.....	19
2.2.2.6. Química .....	20
2.2.2.7. Toxicidad.....	20
<b>2.2.3. <i>Valeriana prionophylla</i> Standl.</b> .....	20
2.2.3.1. Aspectos botánicos .....	20
2.2.3.2. Distribución .....	21
2.2.3.3. Usos tradicionales.....	21
2.2.3.4. Actividad reportada .....	21
2.2.3.5. Droga.....	22
2.2.3.6. Química .....	22

2.2.3.7.	Toxicidad.....	22
<b>2.2.4.</b>	<b><i>Wigandia urens</i> (Ruiz &amp; Pav.) Kunth.....</b>	<b>23</b>
2.2.4.1.	Aspectos botánicos .....	23
2.2.4.2.	Distribución .....	23
2.2.4.3.	Usos tradicionales.....	23
2.2.4.4.	Droga.....	24
2.2.4.5.	Química .....	24
<b>2.3.</b>	<b>Modelo de experimentación .....</b>	<b>24</b>
2.3.1.	Escopolamina .....	24
2.3.2.	Laberinto de Morris .....	26
<b>3.</b>	<b>Justificación .....</b>	<b>27</b>
<b>4.</b>	<b>Objetivos .....</b>	<b>29</b>
<b>5.</b>	<b>Hipótesis .....</b>	<b>30</b>
<b>6.</b>	<b>Materiales y métodos.....</b>	<b>31</b>
6.1.	Universo y muestra .....	31
<b>6.2.</b>	<b>Materiales.....</b>	<b>31</b>
<b>6.3.</b>	<b>Declaración de Ética .....</b>	<b>32</b>
<b>6.4.</b>	<b>Diseño Experimental .....</b>	<b>33</b>
6.4.1.	Grupos de Experimentación.....	33
6.4.2.	Tratamiento .....	34
6.4.3.	Laberinto de Morris.....	34
6.4.3.1.	Descripción.....	34
6.4.3.2.	Condiciones y especificaciones (Vorhees & Williams, 2006). .....	35
6.4.3.3.	Metodología.....	35
<b>6.5.</b>	<b>Análisis Estadístico .....</b>	<b>38</b>
<b>7.</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>39</b>
<b>8.</b>	<b>Discusión .....</b>	<b>43</b>
<b>9.</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>46</b>
<b>10.</b>	<b>Recomendaciones .....</b>	<b>47</b>
<b>11.</b>	<b>Referencias.....</b>	<b>48</b>
<b>12.</b>	<b>Anexos .....</b>	<b>59</b>
12.1.	Anexo 1 .....	59

## Resumen

En la última década se ha estimado que las enfermedades neurodegenerativas afectan a aproximadamente mil millones de personas a nivel mundial. Durante miles de años, diferentes grupos culturales han utilizado y transformado ampliamente los recursos naturales con fines medicinales enfocados en componentes psicológicos o neurológicos. En Guatemala existe un amplio uso de especies vegetales con uso para trastornos relacionados con el sistema nervioso central (SNC). Por lo tanto, el objetivo de éste estudio pretendió evaluar in vivo la actividad neuroprotectora de tres plantas nativas usadas tradicionalmente en Guatemala para afecciones del SNC. Los extractos etanólicos de *Tagetes lucida* Cav (TL), *Valeriana prionophylla* Standl (VP) y metanólico de *Wigandia urens* Ruiz & Pav. Kunth (WU) fueron administrados oralmente (100-200 mg/kg), previo a administración intraperitoneal de escopolamina (ESC, 3 mg/kg) en ratones macho CD-1. Posteriormente se evaluó memoria de adquisición (día 2-6) y de referencia (día 7) utilizando el laberinto acuático de Morris a partir de análisis automatizado de comportamiento (ToxTrac). Se utilizó como control positivo N-acetilcisteína (NAC) 100 mg/kg. El extracto de VP (100 mg/kg y 200 mg/kg) mostró un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) en el tiempo de nado en el cuadrante objetivo en el día de referencia comparado al grupo control ESC, similar al grupo NAC. Similarmente, WU mostró un aumento significativo comparado con ESC únicamente en la concentración de 200 mg/kg. Por otro lado, TL no mostró diferencia significativa en los tiempos de nado comparado con el grupo control ESC. En conclusión, el extracto de VP presentó un efecto neuroprotector contra la pérdida de memoria inducida por ESC y adhiere evidencia a los efectos en el SNC producidos por esta especie endémica.

## 1. Introducción

Se estima que las enfermedades neurológicas afectan a nivel mundial a unos mil millones de personas, representando esto el 6% de población mundial. Entre las enfermedades neurológicas se encuentra la Enfermedad de Alzheimer, Enfermedad de Parkinson, demencia, depresión, esquizofrenia, entre otras muchas otras (Jellinger, 2010). Sola la demencia afecta a nivel mundial a unos 50 millones de personas, de las cuales alrededor del 60% viven en países de ingresos bajos y medios. Cada año se registran cerca de 10 millones de nuevos casos. Se calcula que entre un 5% y un 8% de la población general de 60 años o más sufre demencia en un determinado momento (Organización Mundial de la Salud, 2020). En Guatemala se reportaron del año 2012 al año 2019, 4954 casos, representado esto al 0.03% de la población guatemalteca (SIGSA, n.d.). En los datos a nivel nacional se debe de tomar en cuenta la deficiencia en atención primaria en salud que padece en nuestro país, lo cual imposibilita saber la cantidad total de personas que sufren enfermedades por problemas de neurodegeneración. Los trastornos mentales comprenden una amplia gama de problemas, con diferentes síntomas, generalmente caracterizados por una combinación de pensamientos, emociones, comportamiento y relaciones anormales con los demás. Diversos modelos animales han explorado la correlación entre fisiopatología *in vivo* y traslación a trastornos neurológicos en humanos (Cryan & Holmes, 2005; Woodruff et al., 2011). En los últimos años, gran cantidad de estudios de comportamiento, análisis electrofisiológicos, análisis de imágenes neurológicas y biomarcadores moleculares han contribuido al descubrimiento de nuevas alternativas terapéuticas y tratamientos que puedan contribuir a abordar enfermedades neurodegenerativas.

En la búsqueda de nuevas alternativas, los productos naturales han cobrado un papel importante en diseño de nuevas moléculas que puedan utilizarse en estudios clínicos aleatorizados, doble ciego y placebo controlados. Muchos de estos estudios han abordado la medicina tradicional que se utiliza en distintos países para comprobar su potencial terapéutico. Así mismo, en las últimas décadas el uso de plantas medicinales para fitoterapia o para la extracción de principios activos con potencial farmacológico ha tenido una gran prevalencia (Cañigüeral, Dellacassa, & Bandoni, 2003). Se han identificado a nivel mundial más de 300 plantas con potencial terapéutico para el Alzheimer mediante la regulación de la acetilcolinesterasa (Barbosa Filho et al., 2006). En Guatemala han sido poco exploradas las alternativas terapéuticas tradicionales para problemas neurodegenerativos asociados a la calidad de vida, como pérdida de memoria o para tratar problemas relacionados a la neurodegeneración. Esto quiere decir que en la actualidad las plantas nativas que se utilizan de manera tradicional carecen de evidencia científica y por lo tanto de seguridad para tratar. Existe una gran



diversidad de plantas medicinales nativas de Guatemala que actúan a nivel del sistema nervioso central, por ejemplo, *Tagetes lucida* Cav. como antidepresivo (Guadarrama, Alarcon, Lezama, Vazquez, & Bonilla, 2008), *Valeriana prionophylla* Standl. como inductoras del sueño (Cruz, 2005) y *Wigandia urens* Ruiz & Pav. Kunth para el tratamiento del nerviosismo (Instituto Indigenista Nacional., 1971). Así mismo se ha demostrado que dichas plantas tienen actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa, una de las dianas terapéuticas para el tratamiento del Alzheimer ya que aumenta la cantidad de acetilcolina disponible para la transmisión sináptica (Dayrin Ortiz, Valdez, & Caceres, 2013). Sin embargo, falta por esclarecer el potencial de la medicina tradicional guatemalteca para tratar problemas asociados a la neurodegeneración.

Es por ello que el presente estudio evalúa la actividad neuroprotectora de 3 plantas de uso tradicional en Guatemala (*Tagetes lucida* Cav, *Valeriana prionophylla* Standl y *Wigandia urens* Ruiz & Pav. Kunth). En un modelo de Laberinto Acuático de Morris el cual evalúa la pérdida de memoria (Morris, 1984) en ratones CD-1. Se utilizaron como controles: escopolamina, que es uno de los varios antagonistas muscarínicos no selectivos. que se han usado para inducir amnesia en sujetos experimentales imitando parcialmente los déficits de memoria observado en pacientes con demencia (Cherny et al., 2001); n-acetilcisteína, el cual ha demostrado minimizar el daño cortical causado por la administración de escopolamina (Al-Quraishy et al., 2020); y solución salina como control normal. En los resultados se obtuvo que algunas de los extractos de las plantas evaluadas reducen significativamente la pérdida de memoria causada por la escopolamina.

## 2. Antecedentes

### 2.1. Memoria y Neurodegeneración

#### 2.1.1. Definiciones

La memoria hace referencia a un conjunto de sistemas que permiten adquirir, retener y recuperar información (Schott et al., 2003). En estos sistemas las unidades funcionales son las neuronas, en estas se pueden producir variaciones de sensibilidad de transmisión sináptica de una neurona a otra las cuales tienden a ocasionar deficiencia en la memoria o amnesia (Loubon & Franco, 2010). Los neurotransmisores colinérgicos como la acetilcolina son los principales responsables de la transmisión sináptica, por tanto, la disfunción de esta puede causar pérdida de memoria; esto se ha observado como el caso del Alzheimer donde la ausencia de acetilcolina es uno de los efectos primarios de la enfermedad (Álvarez Castillo, Rodríguez Alfaro, & Salas Boza, 2020).

La deficiencia de la transmisión sináptica causada por el daño o deterioro de las neuronas por medios químicos o patologías se conoce como neurodegeneración (Abril Carreres, Ticó Falguera, & Garreta Figuera, 2004; Jellinger, 2010). La neurodegeneración ha sido uno de los temas más estudiados en los últimos años debido a que está involucrada en una gran diversidad de patologías como el Alzheimer, Parkinson, demencia, depresión, esquizofrenia, entre otras. (Jellinger, 2010; Organización mundial de la Salud, 2006). Existe una gran diversidad de mecanismos con factores activadores característicos que causan la neurodegeneración, así mismo para cada mecanismo existe varios biomarcadores que pueden ser utilizados para evaluar la progresión o tratamiento de esta (Renzo Lanfranco, Manríquez-Navarro, Leyla Avello, & Canales-Johnson, 2012). El amplio estudio de la neurodegeneración y el descubrimiento de nuevos principios activos y por tanto nuevas terapias farmacológicas ha impactado positivamente en la esperanza y calidad de vida, ya que, a pesar de seguir siendo patologías terminales, ahora existen tratamientos que evitan la progresión parcial de estas, haciendo que el estado crónico de la patología se retrase (Schott et al., 2003).

#### 2.1.2. Epidemiología y factores de riesgo

Los factores de riesgo varían según el tipo de enfermedad neurodegenerativa.

### 2.1.2.1. Demencia

**Edad:** el predictor más fuerte para la demencia es años (Figura No.1). La prevalencia de demencia aumenta bruscamente en los mayores de 80 años, y es más frecuente entre mujeres mayores que entre sus homólogos masculinos. Tanto en hombres como en mujeres entre edades de 65 y 80 años, la incidencia de Alzheimer se duplica cada 4 años, alcanzando una prevalencia de 30% por edad (Azad, Al Bugami, & Loy-English, 2007).

**Antecedentes familiares:** Las personas con parientes con demencia tienen un 10% a 30% más de riesgo de desarrollar Alzheimer. alrededor del 7% de los casos de inicio temprano son familiares, con un autosoma patrón dominante de herencia y penetrancia (Azad et al., 2007).

**Genotipo Apolipoproteína E-e4 (APOE-e4):** es el factor de riesgo genético conocido más significativo para la demencia en la población general. APOE-e4 está asociado con la creciente probabilidad de enfermedad de Alzheimer de inicio tardío y también puede desempeñar un papel en la etiología genética de VaD. Este alelo está asociado con niveles más altos de colesterol total. El efecto principal del alelo APOE-e4 es cambiar la edad de inicio: un promedio de 10 años antes en presencia de 1 alelo y de 10 a 20 años antes en presencia de 2 alelos (Azad et al., 2007).

**Hipertensión arterial medía:** La hipertensión en la mediana edad parece ser un parámetro predictivo significativo del deterioro cognitivo posterior y un aumento en el riesgo de la enfermedad de Alzheimer. Aparte del infarto cerebral los mecanismos por los cuales la hipertensión y posiblemente otros factores de riesgo vascular pueden afectar la cognición pueden incluir la vasculopatía isquémica, que puede causar micro infarto o desmielinización en la sustancia blanca cerebral (Azad et al., 2007).

**Diabetes:** la asociación entre la diabetes y la demencia parecen fuertes, pero no concluyentes, sin embargo, los individuos con deterioro cognitivo leve (MCI) y diabetes tenían más probabilidades de progresar a demencia que los individuos con MCI y sin diabetes (Baumgart et al., 2015).

**Obesidad de mediana edad:** la obesidad en la mediana edad está asociada con un mayor riesgo de demencia, sin embargo, se ha encontrado un menor riesgo de

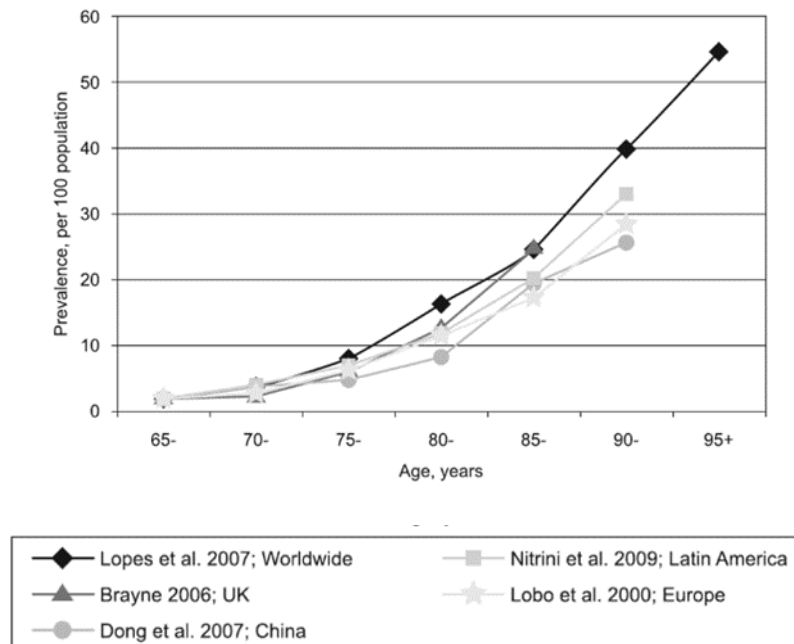
demencia entre aquellos que tienen sobrepeso incluso en la mediana edad en comparación con aquellos que tienen bajo peso (Baumgart et al., 2015).

### Factores de riesgo en el estilo de vida

- Tabaquismo
- Poca actividad física
- Mala dieta
- Exceso de consumo de alcohol

### Otros Factores de Riesgo

- Lesión cerebral traumática
- Depresión
- Alteración del sueño e insomnio



**Figura No. 1 Prevalencia de la demencia según la edad** (McNamara, 2011)

#### 2.1.3. Epidemiología internacional

La distribución de la demencia en todo el mundo parece variar de acuerdo con las diferencias culturales y socioeconómicas, la prevalencia general de demencia y el

Alzheimer en particular parece ser mayor en los países desarrollados que en los países en vías de desarrollo; esta mayor prevalencia se atribuyó a una mayor exposición a factores de riesgo como accidentes cerebrovasculares, hipertensión, tabaquismo, obesidad y diabetes (J. J. L. Rodríguez et al., 2008)

En 2001, el 60.1% de todas las personas con demencia vivían en países en desarrollo; se espera que esta proporción aumente al 71.2% para 2040. La transición demográfica del envejecimiento avanza con rapidez especialmente en China, India y América Latina, donde la demencia se está convirtiendo rápidamente en el principal problema de salud pública. Aunque la información epidemiológica sobre la prevalencia de demencia y sus subtipos sigue siendo escasa, el estudio de consenso de Delphi encontró que la prevalencia de la demencia era alta en América y baja en las regiones del mundo menos desarrolladas, como África y Medio Oriente (Tabla No.1). Entre países desarrollados, Japón tiene la prevalencia más baja de demencia y Alzheimer; y la prevalencia de demencia en los países de Europa del Este fue relativamente uniforme (Rizzi, Rosset, & Roriz-Cruz, 2014).

**Tabla No. 1 número de casos con Demencia de acuerdo con el Estudio Delphi**

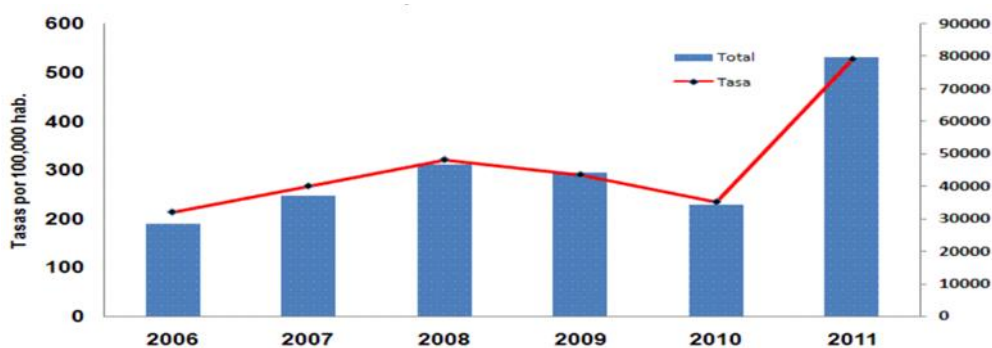
	Absolute number of people over 60 years old who have dementia (millions)		
	2001	2020	2040
Western Europe	4.9	6.9	9.9
Eastern Europe low adult mortality	1.0	1.6	2.8
Eastern Europe high adult mortality	1.8	2.3	3.2
North America	3.4	5.1	9.2
Latin America	1.8	4.1	9.1
North Africa and Middle Eastern Crescent	1.0	1.9	4.7
Developed Western Pacific	1.5	2.9	4.3
China and the developing Western Pacific	6.0	11.7	26.1
Indonesia, Thailand, and Sri Lanka	0.6	1.3	2.7
India and South Asia	1.8	3.6	7.5
Africa	0.5	0.9	1.6
Total	24.3	42.3	81.1

(Ferri, et al, 2005).

#### 2.1.4. Epidemiología de Guatemala

Según el sistema de información gerencia de salud (SIGSA, n.d.) del Gobierno de Guatemala, no se tienen ningún registro ni estadísticas de que porcentaje de la

población padece trastornos mentales o de comportamiento del año 2012 a la actualidad, solo se cuenta con los registros del año 2008 al 2012, siendo estos los siguientes (Figura No. 2 y 3).



**Figura No. 2 Tasas de trastornos mentales y del comportamiento por año, Guatemala 2008-2012**

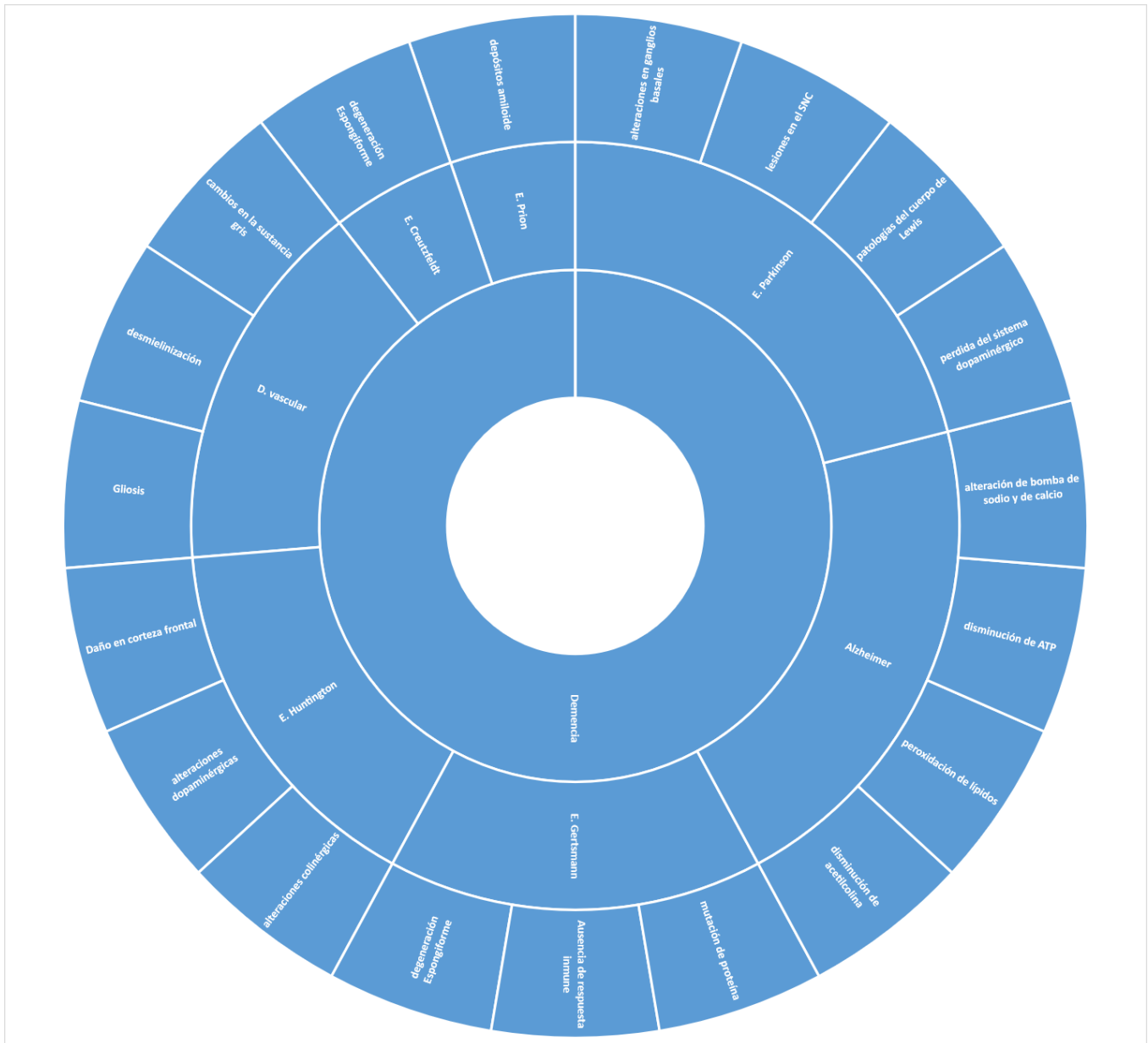
Grupo edad	Casos F	Tasa F	Casos M	Tasa M	Total	Tasa país
< - 1	1249	564.4	1162	503.5	2411	25.2
1 - 4	2503	287.8	2607	289.4	5110	2.6
5 - 9	3130	307.5	3957	376.1	7087	276.1
10 - 14	3993	430.1	3164	333.5	7157	39.8
15 - 19	6191	743.5	2314	273.9	8505	496.8
20 - 24	6801	952.1	1974	281.4	8775	610.9
25 a 39	16802	1,067.7	4752	830.6	21554	708.7
40 a 49	6478	466.3	2140	464.6	8618	731.9
50 a 59	3842	1,067.8	1490	418.0	5332	618.9
60 a 64	1310	805.6	630	275.0	1940	587.5
65 - mas	2034	579.7	1280	369.0	3314	485.6

**Figura No. 3 Trastornos mentales y del comportamiento por grupos de edad, caso y tasa por 10000 habitantes, Guatemala 2012**

#### 2.1.5. Fisiopatología

La demencia es el resultado de la disfunción y la muerte de células del sistema nervioso central y periférico. Con etiología diversa, se inicia de una manera insidiosa y se manifiesta por un agotamiento progresivo y simétrico de las neuronas que producen déficit cognoscitivo múltiple, que desemboca en deterioro de la capacidad para aprender y tendencia a olvidar lo aprendido. Entre las enfermedades

neurodegenerativas que cursan con demencia están: Alzheimer, Parkinson, Huntington, Pick, Creutzfeld-Jakob y demencias de etiologías múltiples (Figura No.4). La población con una mayor predisposición a padecerlas es la que se encuentra por arriba de los 50 años, lo que coincide con una disminución de la concentración sanguínea de hormonas gonadales, uno de los diversos factores de riesgo. Entre las áreas anatómicas más comúnmente afectadas se encuentran el hipocampo, las áreas motoras primaria y somatosensorial, algunas estructuras del sistema límbico, las cortezas parietal-temporal, frontal y entorrinal. Se sugiere que la patología de esta última área es la responsable de la alteración olfatoria temprana que presentan después de la instalación de la enfermedad, como ha sido reportado para las enfermedades de Alzheimer y Parkinson entre otras, citándose la posibilidad de que esta disfunción sirva como un detector temprano de enfermedades neurodegenerativas (Navarrete, Próspero, Hudson, & Guevara, 2000).



Elaboración Propia, basado en (Gobierno de España, n.d.; Navarrete et al., 2000).

#### **Figura No. 4 Enfermedades Neurodegenerativas que cursan demencia y algunas de sus Fisiopatologías**

##### **Enfermedad de Alzheimer**

En el Alzheimer las alteraciones anatomopatológicas cerebrales aparecen de una forma global y difusa en las fases avanzadas, pero al inicio hay una clara distribución



topográfica que afecta inicialmente a las regiones del lóbulo temporal medial (hipocampo, corteza entorrinal), lóbulo temporal ventral, cíngulo posterior, y se va extendiendo a áreas neocorticales de los lóbulos parietal, temporal y frontal. Suele mantenerse más indemne la corteza occipital. En el cerebro, en la enfermedad de Alzheimer, hay atrofia, pérdida de peso, disminución de la superficie de las circunvoluciones y aumento de surcos. Microscópicamente se identifican placas seniles, degeneración neurofibrilar (ovillos neurofibrilares) y pérdida neuronal secundaria (Gobierno de España, n.d.).

En la enfermedad de Alzheimer hay alteración de múltiples sistemas de neurotransmisión. Lo predominante es la patología del sistema colinérgico involucrado directamente en los circuitos relacionados con el aprendizaje y la memoria, que son los más precozmente y más intensamente afectados. El déficit colinérgico en la enfermedad de Alzheimer puede revertirse a través de fármacos que inhiban la degradación de acetilcolina y aumenten los niveles de este neurotransmisor en el espacio sináptico. Este tratamiento es efectivo porque, a pesar del gran deterioro de la función colinérgica, todavía queda una cierta producción de acetilcolina y porque los receptores muscarínicos postsinápticos están relativamente preservados. El tratamiento colinérgico puede influir en procesos relacionados con otros neurotransmisores y tener un potencial papel neuroprotector (Gobierno de España, n.d.).

Junto al déficit colinérgico, hay cada día más datos sobre la importancia de la afectación de la neurotransmisión glutaminérgica y su contribución a la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Cuando se produce una hiperfunción glutaminérgica, los niveles altos de glutamato hacen que aumente la sensibilidad de sus receptores. La sobreestimulación glutaminérgica conduce a una degeneración de la neurona por una sobrecarga de calcio intracelular. Este fenómeno se conoce como excitotoxicidad. El glutamato estimula diversos receptores postsinápticos, entre ellos los del tipo n-metil-d-aspartato (NMDA), que intervienen en los procesos de formación de la memoria y en la patogénesis de las demencias (Gobierno de España, n.d.).

En el Alzheimer se distinguen dos tipos de placas seniles, las difusas y las neuríticas. Las placas difusas son acúmulos proteicos extracelulares cuya proteína fundamental es la proteína amiloide- $\beta$  (A- $\beta$ ) de 42 residuos. Aparecen en el envejecimiento normal y se considera que no son tóxicas sobre las células del sistema nervioso. Por el contrario, las placas neuríticas están formadas por A- $\beta$  de 40 y 42 residuos y tienen estructura fibrilar. A su vez, las placas neuríticas pueden ser: placas primitivas, con un núcleo amiloide atravesado por prolongaciones nerviosas o neuritas; placas clásicas, similares a las anteriores, rodeadas de una corona de astrocitos y microglía, y placas quemadas, formadas sólo por el núcleo amiloide. Los ovillos neurofibrilares están formados por proteína tau totalmente fosforilada (Gobierno de España, n.d.).

Según la hipótesis amiloide, el hecho crucial en la enfermedad es la producción excesiva y el depósito de la proteína A- $\beta$ . Se ha considerado, pues, la enfermedad de Alzheimer una amiloidosis. En todas las amiloidosis existe acúmulo de una proteína fundamental, siendo en la enfermedad de Alzheimer la proteína A- $\beta$ . El depósito de amiloide ejerce su toxicidad por varios mecanismos, aumentando los procesos de oxidación, aumentando el sistema glutaminérgico, la entrada de calcio en la célula, la destrucción de sinapsis y la muerte neuronal. La conexión entre la toxicidad por A- $\beta$  y la fosforilación de tau y formación de ovillos neurofibrilares no está bien establecida. Para que aparezca esta toxicidad, la proteína A- $\beta$  debe de estar estructurada, por lo que las placas difusas constituidas por A- $\beta$ 42 no son tóxicas. La proteína A- $\beta$  es sólo parte de la denominada proteína precursora de amiloide (APP), y se piensa que la alteración fundamental en la enfermedad de Alzheimer está en el procesamiento de la APP (Gobierno de España, n.d.).

#### 2.1.6. Modelos *in vivo*

El uso de modelos animales sirve para imitar estados fisiológicos y características fenotípicas que ocurren en el hombre para poder desarrollar, producir y evaluar de agentes o procedimientos de diagnóstico y terapéuticos, así como en estudios de seguridad para evaluar la toxicidad carcinogénica, teratogénica o reproductiva de sustancias químicas y biológicas. Los modelos animales han sido cruciales para la investigación neurológica y psiquiátrica, sin embargo la búsqueda de modelos válidos ha sido difícil en estos campos debido a las diferencias en la estructura del

cerebro y función entre humanos y otras especies, así como la diferencia a diferencia a nivel del SNC; por esto aún no existe un equivalente animal confiable para muchas funciones psicológicas y en consecuencia para trastornos humanos de personalidad, funciones cognitivas, lingüísticas y afectivas (De Deyn & Van Dam, 2011).

Los modelos animales para trastornos neurológicos y psiquiátricos se usan en una variedad de condiciones y síndromes entre los cuales figura neuropatía periférica, miastenia, esclerosis, accidente cerebrovascular, epilepsia, demencia, enfermedad de Parkinson, trastornos de ansiedad, estrés, etc (De Deyn & Van Dam, 2011).

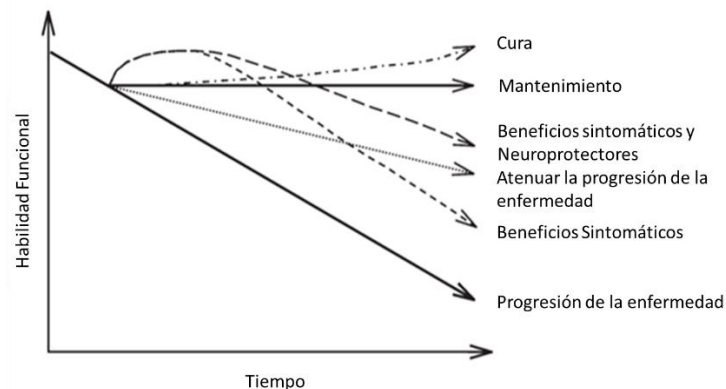
Los investigadores solo han tenido un éxito limitado en el desarrollo de modelos homólogos e isomórficos para los trastornos neurológicos y psiquiátricos humanos, y la mayoría de los modelos disponibles actualmente son parciales. Aunque los modelos homólogos e isomórficos pueden ser óptimos para los fines de la evaluación de la terapia, incluso se pueden descubrir aspectos importantes de una enfermedad en un modelo animal simple que aísla un solo aspecto de una condición humana compleja, como es el caso en muchas condiciones neurológicas y psiquiátricas. Modelos parciales puede ser de gran valor en el proceso gradual de construcción de una imagen más completa de la enfermedad y los mecanismos fisiopatológicos subyacentes, mientras que modelos más completos y complejos solo son posibles en el caso de enfermedades mejor entendidas (De Deyn & Van Dam, 2011).

El desarrollo de modelos animales de demencia para la enfermedad de Alzheimer inicia basándose en el déficit colinérgico, una característica ya bien conocida de la enfermedad de Alzheimer. La amnesia inducida por escopolamina es el modelo más representativo a este aspecto. La escopolamina es uno de los varios antagonistas muscarínicos no selectivos. que se han usado para inducir amnesia en sujetos experimentales. Sin embargo, la escopolamina solo imita parcialmente los déficits de memoria observado en pacientes con demencia (Cherny et al., 2001). Del mismo modo, las deficiencias inducidas por escopolamina en animales no siempre pueden ser inequívocamente interpretado en términos de una discapacidad específica del aprendizaje y memoria (Bishop & Robinson, 2004). A pesar de la naturaleza muy parcial de este modelo químico del Alzheimer, su aplicación en animales experimentales contribuyó al desarrollo de los agentes anticolinérgicos actualmente

comercializados, que han demostrado demostrar un efecto beneficioso sintomático sobre los efectos cognitivos en pacientes.

Los modelos animales para la demencia se pueden clasificar únicamente en modelos espontáneos e inducidos. Los modelos espontáneos buscan producir la demencia mediante procesos naturales como el envejecimiento, mientras que los modelos inducidos se basan en la administración de sustancias químicas o ediciones genéticas que produzcan demencia.

En enfermedades como el Alzheimer los modelos animales en su mayoría tienen como objetivo mejorar o mantener el rendimiento mediante la administración de fármacos neuroprotectores modificadores de la enfermedad dirigidos a procesos etiológicos cruciales, como por ejemplo la demencia. A medida que la enfermedad progresa el tratamiento busca disminuir la tasa de disminución del rendimiento, mejorar los déficits cognitivos y conductuales, sin embargo, las terapias sintomáticas no abordan la causa raíz de la enfermedad (Figura No.5).



**Figura No. 5 Tipos de objetivos en modelos animales** (De Deyn & Van Dam, 2011).

Otros tipos de modelos animales para demencia

- Modelos espontáneos

Roedores: los roedores no desarrollan fisiopatologías tan complejas como los primates, sin embargo, sí manifiestan alteraciones neuroquímicas relevantes para la

enfermedad del Alzheimer como la hipofunción colinérgica (De Deyn & Van Dam, 2011), entre otras.

- Modelos transgénicos

La gran mayoría de los modelos transgénicos se han establecido en el ratón, pero también se pueden usar otras especies como la mosca de la fruta y algunos invertebrados.

#### 2.1.7. Marcadores moleculares

En la enfermedad de Alzheimer de origen genético, que representa entre un 0.5-1% de los casos, se han identificado mutaciones causales en tres genes diferentes: la proteína precursora del amiloide (APP), la presenilina 1 (PSEN1) y la presenilina 2 (PSEN2). Estos casos presentan habitualmente historia familiar con un patrón autosómico dominante y una edad de inicio precoz. En la degeneración lobular frontotemporal se han identificado, hasta el momento, mutaciones causales en 5 genes, que representan entre un 10-15% de los casos, pero no explican todos los casos familiares. Estos genes son el gen de la proteína asociada a microtúbulos tau (MAPT), progranulina (PGRN), el gen de la chromatin modifying proteína 2B (CHMP2B), el gen valosin-containing proteína (VCP) y el gen de la TAR DNA binding proteína (TARDBP); las mutaciones en MAPT y PGRN son las más frecuentes. Las enfermedades priónicas genéticas (entre un 10 y un 15% de los casos) se producen por mutaciones en el gen de la proteína priónica (PRNP). La enfermedad de Huntington se produce por la alteración del exón 1 del gen IT15, gen que codifica la proteína huntingtina. La alteración genética de la Enfermedad de Huntington consiste en una expansión de tripletes citosina-adenina-guanina (CAG) (Molinuevo & Peña-Casanova, 2009).

## 2.2. Etnofarmacología de neurodegeneración

La etnofarmacología guatemalteca para enfermedades neurodegenerativas es un campo que aún se encuentra poco especificado, sin embargo se pueden encontrar tratamientos que encajan con la sintomatología de enfermedades neurodegenerativas (Tabla No.2), como por ejemplo en entrevistas realizadas a sanadores Q'eqchi (Matthew Warren, 2014), se tiene tratamientos para síntomas conductuales relacionados con la enfermedad del Alzheimer, entre

los cuales se encuentran: Pérdida de memoria, dificultad para realizar tareas familiares, problemas de lenguaje, desorientación, juicio pobre y disminuido, dificultad para resolver problemas, extravío de cosas, cambios de humor, cambios de personalidad y pérdida de iniciativa.

Otro ejemplo es la enfermedad “Susto” reportada por grupos Kaqchikel y Q’eqchi del país (Hitziger, 2016), los cuales la describen como un evento aterrador que implica sobresalto, que causa la pérdida de alma o fuerza vital lo cual puede conducir a una enfermedad que implica varios síntomas generales, como inquietud durante sueño, pérdida de apetito, irritabilidad, incapacidad para orinar, debilidad, depresión, introversión, fiebre, dolor muscular, náuseas, vómitos, diarrea y vértigo (Bourbonnais-Spear et al., 2007); a partir de esto la Organización Mundial de la Salud (OMS) asoció el susto con un trastornos mentales, que incluyen una serie de afecciones relacionadas con la ansiedad y el miedo (es decir, trastorno de estrés postraumático, trastorno de ansiedad, trastorno mayor trastornos depresivos, trastornos somatomorfos y otros trastornos neuróticos especificados) (Organización mundial de la salud, 1992).

Según los sanadores entrevistados, el dolor de cabeza, la epilepsia, la locura y el susto están estrechamente relacionados. Por ejemplo, un caso no tratado de epilepsia puede conducir a dolores de cabeza severos y luego a locura si se deja desatendido, convulsiones febriles y no febriles (tónico, clónico y tónico-clónico). Las convulsiones son reconocidas, y muchos creen que las convulsiones no febriles son causadas por espíritus de las montañas y debe ser tratado con plantas "especiales", que se encuentran bosques de las zonas montañosas circundantes. Aunque fueron incluidos como "Enfermedades", el miedo y la pérdida de memoria fueron consideradas más como problemas espirituales por la mayoría de los sanadores entrevistados (Bourbonnais-Spear et al., 2007).

#### 2.2.1. Enfermedades neurológicas en medicina tradicional.

**Tabla No. 2 Enfermedades del sistema nervioso central y sintomatología en la medicina tradicional**

ENFERMEDAD	SINTOMATOLOGÍA DESCRITA
Depresión	Sentimientos de tristeza, agotamiento

Epilepsia / esquizofrenia	convulsiones, dientes apretados, desplome, algo asociado con el miedo.
Nerviosismo	--
Dolor de cabeza	--
Estrés	--
Insomnio	Problemas para dormir
Susto	Diarrea, deshidratación, debilidad, vómitos, dolor de cabeza, fiebre, dolor en el estómago y corazón, fastidio, cambios de comportamiento.
Pérdida de memoria	--
Miedo	Nerviosismo, timidez, poca energía

---

(Bourbonnais-Spear et al., 2007).

### **Productos naturales utilizados en medicina tradicional**

#### **2.2.2. *Tagetes lucida* Cav.**

##### 2.2.2.1. Aspectos botánicos

Hierba glabra, erecta, perenne, comúnmente de 30–75 cm de alto, aromática, tiene una base leñosa, corta gruesa desde la cual se levanta. Cimosamente ramificada. Hojas opuestas, sésiles, lineales o estrechamente oblongas, de 5–10 cm de largo, obtusas, densamente serradas, con numerosas glándulas diseminadoras pequeñas. Flores amarillas en pequeñas cabezuelas terminales. Receptáculo cilíndrico de 9-10 mm de diámetro; 5-7 filarios subulados en el ápice, brácteas 3. Aquenios 6-7 mm de largo, estriados, papus escamosos, 3 mm de largo (Cáceres, 2009a; Cruz, 2005).

##### 2.2.2.2. Distribución

Nativa de Guatemala (Hitziger, 2016), se ha descrito en Chimaltenango, Quiché, Jalapa, Guatemala, Huehuetenango, Petén, Quetzaltenango, Sacatepéquez y San Marcos. Es una hierba que abunda en la época de lluvia y desaparece en época seca. Es nativa desde México a Honduras en bosques de encino y laderas de 1,000–2,000 msnm (Cáceres, 2009a; Cruz, 2005).

### 2.2.2.3. Usos tradicionales

Tradicionalmente por la población maya guatemalteca utiliza la *Tagetes lucida Cav.* para tratar patologías del sistema nervioso central como el susto, nerviosismo y epilepsia (Hitziger, 2016), o como reconstituyente sanguíneo (Kufer, Heinrich, Förther, & Pöll, 2010). Es conocida por los aztecas como "yauhtli" y era un remedio para dolencias como fiebre, miedo, demencia, derrame cerebral y también se usaba como diurético (Adams, Gmünder, & Hamburger, 2007). Se sugiere que esta puede tener efectos en el sistema nervioso central por vía transdérmica e inhalatoria (Mata, Pérez, & Reyes, 2018).

Hoja: Las hojas se utilizan para tratar la diarrea, disentería, cólera, flatulencia, parasitismo intestinal, dolor de estómago, indigestión, inflamación, náuseas, vómitos, malaria, anemia, inflamación de ojos, picadura de escorpión, hepatitis y paludismo. También se utilizan para aliviar el parto y dolor menstrual. Se le atribuye propiedad antiespasmódica, antiséptica, antidiarreica, antiinflamatoria, diurética y febrífuga (Heinrich, Rimpler, & Barrera, 1992; López & Jiménez, 1990; Siegel, Collings, & Díaz, 1977).

En México el emplasto se utiliza para curar tumores, la decocción de la planta entera se utiliza para el dolor de estómago. El extracto acuoso utiliza para enfermedades gastrointestinales, dolor de cabeza, cólicos, tónico, fiebre. La infusión se utiliza para aliviar cólicos intestinales, facilita la digestión, diarrea, tos, aire en el estómago, dolor de estómago. El pericón fumado tiene efecto alucinógeno y psicotrópico. En Guatemala, el extracto acuoso de la planta entera se utiliza para dolor de estómago. La coccción de la planta se utiliza para combatir la diarrea. Tallos y flores: La decocción del tallo y flor sirve para curar padecimientos de la piel. Al extracto acuoso de las hojas y ramas se les atribuye propiedades galactogogas y ecbólicas. El macerado se utiliza para el dolor de aire y dolor de vientre. El cocimiento de las hojas o ramas se utiliza para baño de señoras (Aquino, Cáceres, Morelli, & Rastrelli, 2002; Heinrich et al., 1992).

En la cultura aztecas son frecuentes, también, las referencias a baños de yauhtlil para los niños que sufren de sarpullido, impétigo y otras enfermedades de la piel muy



comunes en las comunidades rurales. Hojas y flores: La infusión de las flores y hojas se utiliza para dolores de estómago, gastritis y gonorrea. La decocción de flores y hojas se utiliza para dolores menstruales. La infusión de las flores y hojas secas se utiliza para tratar las infecciones. La administración oral de las flores secadas a la sombra se utiliza para desórdenes sanguíneos. La decocción de las hojas secas se utiliza para los cólicos, diarrea, indigestión, inflamación y náusea. También para el tratamiento de la gastralgia y dolor de estómago (Cáceres, 2008)

#### 2.2.2.4. Actividad Reportada

Se ha demostrado que *Tagetes lucida Cav.* Tiene actividad en el sistema nervioso central como antidepresiva, ansiolítica y sedantes (Mata et al., 2018). El extracto puede disminuir el dolor que produce el ácido acético en los animales de experimentación y producir un efecto analgésico similar al del ácido acetil salicílico (Yamilet Gutiérrez, Ramón Scull, Gastón García, & Amanda Montes, 2018), afectado receptores opioides y 5-HT. Se demostró que tiene efecto antidepresivo mediante protocolos de nado forzado (Guadarrama et al., 2008) ya que afecta el sistema serotonina en ratas (Gabriela, Javier, Elisa, Gonzalo, & Herlinda, 2012) específicamente en los receptores 5-HT (1A) y 5-HT(2A) (Bonilla-Jaime, Guadarrama-Cruz, Alarcon-Aguilar, Limón-Morales, & Vazquez-Palacios, 2015), finalmente también posee un efecto sedante (Pérez-Ortega & González-Trujano, 2016).

Otras de las actividades que tiene fuera del sistema nervioso central, es su acción como hipotensora (Jui, 1996), espasmolítico *in vitro* en duodeno de ratas (Salguero Rodríguez, 1989), actividad inmunomodulador en ratones medida por un aumento en la población de linfocitos y en los títulos de anticuerpos séricos (Lara, Sandoval, Jiménez, De la Roca, & Guzmán, 1991), antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria (Nayeli et al., 2020), anticancerígena (Céspedes et al., 2006) y antioxidantes (Aquino et al., 2002; Mata et al., 2018).

#### 2.2.2.5. Droga

Hojas (Cruz, 2005), tallos y flores (Cáceres, 2008).

#### 2.2.2.6. Química

La planta contiene tres resinas acídicas, ácido gálico, taninos, glucosa, dextrina, pectina, goma, sales minerales, metoxicumarinas, esdragol, derivados de ácido ciánico, cumarinas, herniarinas y en el aceite esencial se encuentra el anetol. La raíz contiene bitienil, 2-2':5-(but-3-en-1-inil) estragol, fenilpropanoides y aceites esenciales.

Las hojas y flores contienen: aceite esencial (limoneno 16.5%,  $\beta$ -ocimeno 14%,  $\beta$ -cariofileno 28%, mirceno 4-5%, anetol, alilanol, estragol, éter metílico de eugenol, tagetona) alcaloides cuaternarios, flavonoides (quercetagina, patuletina), saponinas, taninos, leucoantocianinas, ácido gálico, glucósidos cianogénicos, cumarinas (herniarina, dimetil alileter de 7 hidroxycumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina), pectina (Cáceres, 2009a)

#### 2.2.2.7. Toxicidad

Popularmente se le atribuye propiedad abortiva. La DL50 de los extractos con actividad espasmolítica por vía oral es mayor de 100 mg/kg de peso (Cáceres, 2009a). El extracto alcohólico provoca en algunas personas síntomas cardiovasculares. El  $\alpha$ -tertienilo puede ser fototóxico en presencia de luz UV cercana y producir una fotodermatitis por un mecanismo que no depende de la peroxidación lipídica de la membrana (Cruz, 2005).

### 2.2.3. *Valeriana prionophylla Standl.*

#### 2.2.3.1. Aspectos botánicos

Género de 200 especies, 12 descritas en Guatemala, seis medicinales. Hierba perenne, erecta. Raíz bifurcada. Tallo 10–80 cm de alto, piloso o glabro. Hojas basales, oblongolíneas a espatuladas, obtusas, aserradas. Inflorescencia pedunculada, flores numerosas en panículas densas o difusas, rosadas; aquenios glabros o pilosos, costa adaxial conspicua (Cruz, 2005).

#### 2.2.3.2. Distribución

Nativa de Guatemala y sur de México (Cáceres, 2008). En Guatemala se encuentra en altitudes de 2,100-4,200msnm en Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzaltenango, Sacatepéquez, San Marcos, Sololá y Totonicapán; y se ha descrito en el 18 Altiplano occidental (Cruz, 2005), también se ha descrito en Costa Rica, Panamá y Bolivia.

#### 2.2.3.3. Usos tradicionales

En la medicina tradicional mexicana, guatemalteca y costarricense es ampliamente usada en la forma de infusión acuosa, como sedante y antiespasmódico (Cáceres, 2008), sin embargo, no hay gran variedad estudios específicos sobre la especie, pero se supone actividad similar a las otras de la misma familia. La infusión y tintura se usa oralmente para tratar afecciones nerviosas (convulsiones, insomnio, histeria, mareo, nerviosismo, neuralgia), fiebre, resfrío, reumatismo y problemas cardíacos. La decocción se aplica en cataplasma o compresas para curar heridas, llagas, raspones, tumores y enfermedades oculares. Se le atribuye propiedad calmante, depurativa, diurética, espasmolítica, estomáquica, hipotensora, vaso relajante, antioxidante, sedante, sudorífica, tónica, tranquilizante y vulneraria (Cáceres, 2009a; Cruz, 2005).

#### 2.2.3.4. Actividad reportada

Se ha demostrado utilizando modelos de campo abierto, la varilla giratoria, el laberinto elevado plus (EPM), la natación forzada (FST), que el extracto hidroalcohólico del rizoma seco tiene actividades vaso relajante ansiolítica antidepresiva y sedantes (De Souza et al., 2011). La actividad vaso relajante es causada por la implicación de los canales de potasio en la arteria mesentérica de rata, además, la relajación independiente del endotelio inducida por VPR implica la activación de los canales  $K^+$ , muy probablemente debido a los canales BK Ca, en la arteria mesentérica superior de la rata (Reis et al., 2013). Los efectos antidepresivos se producen a través de vías que implican interacción con sistemas serotoninérgicos, L-arginina, óxido nítrico y GABA, así como la interacción con los adrenoreceptores  $\alpha$  (Holzmann et al., 2016).

Se ha demostrado que en la composición química de *Valeriana prionophylla* Standl. los aglicones presenta una potente actividad antioxidante (Piccinelli et al., 2004); además, el aceite esencial podría usarse como antimicrobiano potencial en el desarrollo de productos en medicina y en la industria alimentaria (Perez Sabino Juan et al., 2017).

#### 2.2.3.5. Droga

Raíz (Cruz, 2005), Fragmentos de raíz, rizoma y estolones, desecados y reducidos a trozos irregulares (Cáceres, 2008). Según los resultados obtenidos hasta el momento, la hoja desecada tamizada en mesh No. 5 de color verde-blancuzco a verde-pardo, también puede utilizarse como materia vegetal (Cáceres, 2009b).

#### 2.2.3.6. Química

Las hojas presentan ácido hidroxivalerénico y flavonoides en cantidades aproximadas de  $1.12 \pm 0.43\%$ . Los rizomas presentan ácido hidroxivalerénico (mayor concentración que en la hoja), ácido valerénico, isovaltrato, acevaltrato, didrovaltrato, homo:didrovaltrato, iso-valeroxi-hidroxi:didrovaltrato, valtrato, dihomo:valtrato, homo:valtrato, iso:valtrato, iso:homo:valtrato, prinsepiol-4-O- $\beta$ -D-glucopiranosido, fraxiresinol-4'O- $\beta$ -D-glucopiranosido, 8-hidroxipironesinol-4'-O- $\beta$ -D-glucopiranosido, 8-hidroxipinoresinol y prinsepiol (Chavadej, Becker, & Weberling, 1985; Piccinelli et al., 2004; Riquett, 2007).

Se ha determinado la presencia de aceite esencial con un promedio de  $(0.1 \pm 0.15\%)$  para las hojas y de  $(0.41 \pm 0.28\%)$  para los rizomas. Posee una composición compleja que incluye ácido isovalérico, ácido-3-metilvalérico, ácido valérico, isovalerato de alilo, ácido 3-metil-2-oxovalérico, hexili de sesquiterpenos (como  $\alpha$ ,  $\beta$  y transcariofileno,  $\beta$ -pineno, camfeno acetato de bornilo, farnesol, limoneno y  $\beta$ -bisaboleno); ácidos carboxílicos, hidrocarburos, alcoholes y cetonas, entre otros (Cáceres, 2009b).

#### 2.2.3.7. Toxicidad

La administración oral a ratones del elixir de una mezcla vegetal que incluye *V. prionophyllano* mostró signos de toxicidad a 1,200mg/kg durante 8 días

(DL50>1,200mg/kg) (Cáceres, 2008). El extracto etanólico por vía oral en conejas y ratas embarazadas no es teratogénico ni embriotóxico, ni produce un efecto inhibitor de la ovulación en ratas (Cruz, 2005). Los valepotriatos tienen actividad citotóxica pero no se han identificado efectos colaterales en las dosis habituales.

En 28 pacientes con insomnio que tomaron tintura 1:5 no se observaron efectos secundarios, ni en 20 pacientes con cáncer de mama que presentaban ansiedad que lo consumieron por 40 días (Quiñones, 2007; Roca, 2005). Puede causar somnolencia, por lo que no se recomienda la operación de maquinaria ni conducir un vehículo cuando se encuentre en este estado. Aunque no se han demostrado clínicamente la interacción entre la valeriana y el alcohol, como una medida preventiva no se deben consumir con bebidas alcohólicas o de forma conjunta con otros sedantes. Se han reportado efectos adversos menores, asociados con el uso crónico de rizoma e incluye dolor de cabeza, excitabilidad, ansiedad e insomnio (Cáceres, 2008).

#### **2.2.4. *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth**

##### 2.2.4.1. Aspectos botánicos

Arbusto de 2 a 5 m de alto, tallo herbáceo, con pelusilla blanca. Hojas alternas, tallo acanalado, 50 – 60 cm de largo, dentado en la base, agujas en el peciolo. Flores sésiles, moradas acampanadas de 1 a 2 cm de ancho. 5 estambres; cáliz persistente, hispido, estigma clava; ovarios ovoides sedosos, panículas terminales de 50 a 60 cm de largo. Cápsula oblongo-cónica, 8 mm de largo, Bivalva. Semillas numerosas, pequeñas, rugosas, café (D. Ortiz & Lopez, 2010).

##### 2.2.4.2. Distribución

Nativo de México a Perú, en Guatemala se encuentra en Alta Verapaz, Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzaltenango, Quiche, Sacatepéquez, San Marcos y Santa Rosa (D. Ortiz & Lopez, 2010).

##### 2.2.4.3. Usos tradicionales

Se ha reportado su uso en la fitoterapia maya de Guatemala en el tratamiento de la epilepsia y síntomas psicológicos, así como también problemas infecciosos, como

purificante de la sangre y para problemas inmunológicos (Hitziger, 2016). La infusión de hojas y flores se usa para diarrea, inapetencia, indigestión, retención urinaria, reumatismo, nerviosismo y tos ferina. A la raíz se le atribuyen propiedades diuréticas, febrífugas y sudoríficas (D. Ortiz & Lopez, 2010).

#### 2.2.4.4. Droga

Hojas y flores.

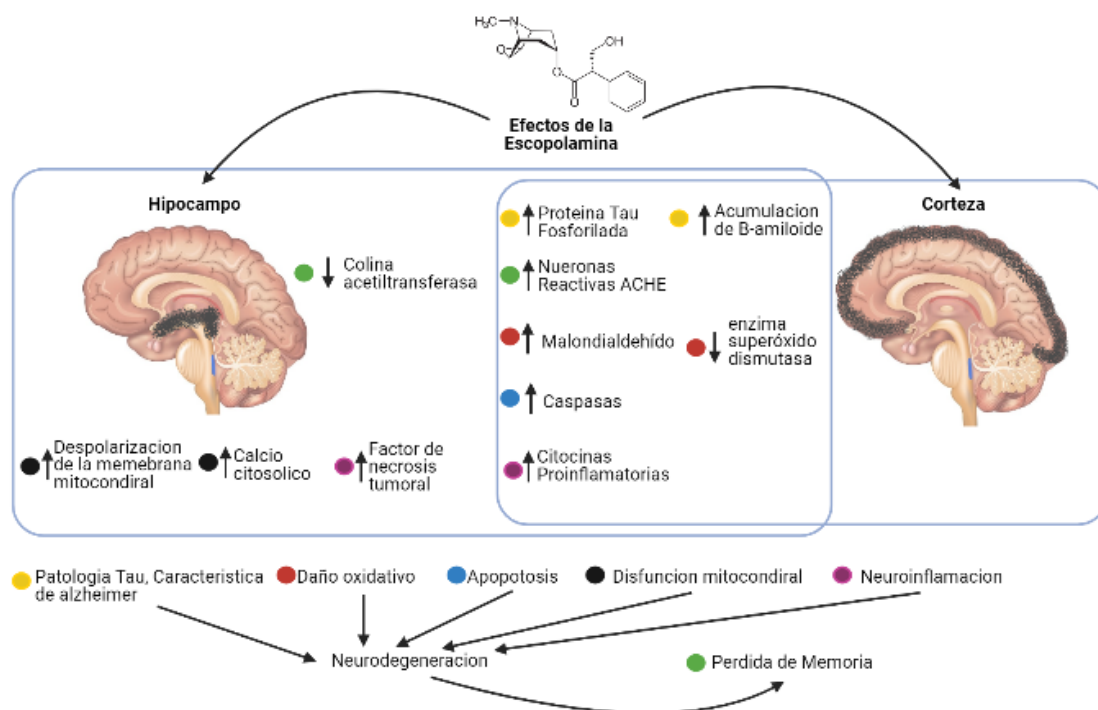
#### 2.2.4.5. Química

La planta presenta taninos, mucilagos, almidones y aceites esenciales en su composición (Galindo, Kestler, & Mendez, 2009)

### **2.3. Modelo de experimentación**

#### 2.3.1. Escopolamina

La escopolamina es un inductor químico que causa amnesia de manera momentánea debido a que es un antagonista competitivo no específico de los receptores colinérgicos muscarínicos a nivel del sistema nervioso central (Ana Bernal, LastName, Gómez, López, & Acosta, 2013; Can et al., 2018; VADEMECUM, 2015). A pesar de que la escopolamina es una antagonista no específico las respuestas amnésicas provocadas en humanos parecen imitar muy de cerca los déficits cognitivos asociados con la enfermedad de Alzheimer (Figura No. 6) (Buccafusco et al., 2008).



Elaboración propia basado en (Al omairi et al., 2019; Antonova et al., 2011; Seifhosseini, Jahanshahi, Moghimi, & Aazami, 2011).

### Figura No. 6 Mecanismo de acción de la escopolamina

Se ha demostrado que la escopolamina actúa en muchos mecanismos similares a los del Alzheimer, como por ejemplo: reduce el número de neuronas y la actividad neuronal en el hipocampo (Antonova et al., 2011; Seifhosseini, Jahanshahi, Moghimi, Aazami, et al., 2011), aumenta el nivel de la proteína A $\beta$  que favorece el crecimiento de la placa beta-amiloide, aumenta el nivel de la proteína tau fosforilada, disminuye la actividad de la acetiltransferasa que disminuye la producción de acetilcolina, aumenta el MDA que es un indicador del estrés oxidativo generado a partir de la peroxidación de lípidos, aumenta la disfunción mitocondrial, aumenta la apoptosis neuronal en el hipocampo y la neuro inflamación, disminuye el factor de crecimiento en el hipocampo que es necesario para la reparación neuronal (Tang, 2019), y finalmente se ha demostrado que disminuye la concentración de dopamina, norepinefrina, serotonina e histamina (Al omairi et al., 2019)

### 2.3.2. Laberinto de Morris

El laberinto de Morris (LDM) fue diseñado como un método para evaluar el aprendizaje espacial. Morris describió los procedimientos básicos en 1984 y posteriormente agregó detalles y procedimientos para evaluar formas relacionadas de aprendizaje y memoria. Varias características han contribuido al uso frecuente del LDM estos incluyen la falta de entrenamiento previo requerido, su alta confiabilidad en una amplia gama de configuraciones de tanques y procedimientos de prueba, su utilidad entre especies (ratas, ratones y humanos (en un laberinto virtual 4), amplia evidencia de su validez como una medida de la navegación espacial dependiente del hipocampo y la memoria de referencia, su especificidad como una medida de aprendizaje en el lugar y su relativa inmunidad a las diferencias motivacionales en una gama de efectos de tratamiento experimental que son secundarios al efecto central propósito de la tarea, como la genética, farmacológica, nutricional y toxicológica (Vorhees & Williams, 2006).

El LDM se basa en el hecho de que un animal intentará escapar de una situación estresante, que en este caso es un gran charco de agua. La piscina contiene una pequeña plataforma, visible sobre el nivel del agua o justo debajo de la superficie del agua. Esta pequeña plataforma permite que los animales escapen del agua y les permite estar de pie sin el estrés de la natación, y está diseñada con una malla o material ranurado que permite un fácil manejo. El preentrenamiento ocurre al introducir la ubicación de la plataforma de escape y al usar una plataforma que es visible sobre la superficie del agua. En los días siguientes, se realiza la prueba real, en la que la plataforma está oculta debajo de la superficie del agua.



### 3. Justificación

La incidencia de las enfermedades neurodegenerativas ha ido en aumento en los últimos años a nivel mundial. En el 2016 había 46 millones de personas viviendo con demencia en todo el mundo y se estima que en el 2050 este número crecerá a 131.5 millones de personas (Batista & Pereira, 2016). Así mismo, los gastos que estas causan representan un problema que va en aumento para los sistemas de salud pública. En el 2015 el costo social global total de la demencia se estimó en 818 mil millones de dólares, lo que equivale al 1.1% del producto interno bruto (PIB) mundial (Organización Mundial de la Salud, 2020). A medida que la medicina moderna aumenta la esperanza de vida, también aumenta la presencia de enfermedades neurodegenerativas, ya que se estima que entre el 5 y 8% de las personas 60 años o más padecen o padecerán demencia (Organización Mundial de la Salud, 2020). A pesar de todo esto, aun no existe una cura definitiva y por el momento sólo se cuenta tratamientos que ralentizan la aparición de los síntomas. Por tanto, es de vital importancia la investigación de nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de estas enfermedades.

Las enfermedades neurodegenerativas han demostrado que son enfermedades complejas con múltiples mecanismos moleculares involucrados. Por lo cual, las terapias farmacológicas deberían de ir orientadas a varias dianas terapéuticas, algo que no se tiene en los medicamentos actuales. Las plantas y sus extractos se componen de varios metabolitos secundarios, lo cuales podrían actuar en múltiples objetivos moleculares de manera aditiva o incluso sinérgica. Lo cual ha sido utilizado en investigación en los últimos años (Long, Yang, Xu, Hao, & Li, 2015; Tewari et al., 2018). Uno de los puntos de partida en la detección de la actividad farmacológica de una planta, es el conocimiento etnobotánico que comunidades rurales suelen usar con fines farmacológicos. Esto es sumamente importante en Guatemala, ya gran parte de la población del área rural que no cuenta con atención primaria en salud, por lo cual la medicina tradicional sigue siendo un pilar para lograr la cobertura nacional de salud. El limitado acceso a servicios de atención primaria en salud en Guatemala se evidencia con altos índices de desnutrición crónica infantil 49.8%. Siendo el sexto país con los mayores índices a nivel mundial y el primero en América latina (UNICEF, 2018). Así mismo, existe una limitada evidencia de la seguridad y eficacia de las plantas utilizadas tradicionalmente de forma medicinal. Esto dificulta la formulación de políticas que regulen e integren su uso en la atención primaria de salud (Geck et al., 2020).

Algunas de las plantas nativas de Guatemala con conocimiento etnofarmacológico y posibles efectos neuroprotectores pueden ser: *Tagetes lucida* Cav. con usos tradicionales en patologías del sistema

nervioso central como nerviosismo, susto y epilepsia (Cáceres, 2009a; Hitziger, 2016), *Valeriana prionophylla* Standl. Planta nativa la cual ha reportado efectos para reducir la ansiedad en pacientes de cáncer (Quiñones, 2007), *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth con usos tradicionales para el tratamiento de la epilepsia y síntomas psicológicos (Hitziger, 2016; D. Ortiz & Lopez, 2010). Sin embargo, están carecen de una suficiente cantidad de estudios que garanticen su seguridad y eficacia. Por ejemplo, *Valeriana prionophylla* Standl. cuenta poca investigación de sus efectos en el SNC, aunque ya se ha comprobado que posee efectos antidepresivos en ratas (Guadarrama et al., 2008; Khulbe, Pandey, & Sah, 2013). *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth no tiene una gran variedad estudios específicos sobre la especie, pero se supone actividad similar a las otras de la misma familia las cuales se usan tradicionalmente para tratar problemas de convulsiones, insomnio, histeria, mareo, nerviosismo, neuralgia.

## 4. Objetivos

### 4.1. General

4.1.1. Evaluar de la actividad neuroprotectora de plantas de uso tradicional en Guatemala en un modelo de pérdida de memoria inducida por escopolamina en ratones CD-1

### 4.2. Específicos

4.2.1. Establecer las variables que afectan el modelo, así como la concentración de escopolamina que produce pérdida de memoria en el laberinto acuático Morris, mediante la validación de este.

4.2.2. Determinar la actividad neuroprotectora comparado en tiempo de nado en el laberinto de Morris por los grupos de experimentación que serán administrados con *Tagetes lucida* Cav. + escopolamina, *Valeriana prionophylla* Standl. + escopolamina y *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth + escopolamina, con el grupo control negativo (escopolamina) y el grupo control (solución salina).

4.2.3. Evaluar el grado de neuroprotección comparando el tiempo de nado en el laberinto de Morris por los grupos de experimentación que fueron administrados con los extractos de *Tagetes lucida* Cav + escopolamina, *Valeriana prionophylla* Standl. + escopolamina y *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth + escopolamina, con el grupo control (solución salina) y el grupo control positivo (N-acetilcisteína) para determinar el grado de neuroprotección.

## 5. Hipótesis

Los extractos de *Tagetes lucida* Cav., *Valeriana prionophylla* Standl. y *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth. presentan actividad neuroprotectora igual o mejor a la del control N-acetilcisteína y previene los déficits inducidos por escopolamina en un modelo de pérdida de memoria en ratones CD-1.

## 6. Materiales y métodos

### 6.1. Universo y muestra

6.1.1. Universo: Plantas nativas de uso tradicional en Guatemala utilizadas para tratar problemas del sistema nervioso central

6.1.2. Muestra: *Tagetes lucida* Cav., *Valeriana prionophylla* Standl. y *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth.

### 6.2. Materiales.

#### 6.2.1. Extractos vegetales

6.2.1.1. Extracto etanólico (70%) de las hojas de *Tagetes lucida* Cav. del Stock del LIPRONAT con número de Baucher: 1127, identificado en el Herbario BIGU, recolectado en Cuatro Caminos, San Cristóbal, Totonicapán, N 14°55'05.70" W 91°26'31.64 Altura 2400 msnm

6.2.1.2. Extracto etanólico (50%) del rizo de *Valeriana prionophylla* Standl. extracto del Stock del LIPRONAT, con número de Baucher: 49181, identificado en el Herbario AGUAT, recolectado en Xetenám Xexube Chajul, Quiche. N 15°28'43.1" W 91°02'09.2" altura 1,990 msnm,

6.2.1.3. Extracto metanólico (80%) de la flor de *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth. del Stock del LIPRONAT con número de Baucher: 1068, identificado en el Herbario de Farmaya, S.A. recolectado en Carretera hacia el volcán de Acatenango, 14°32'23.0 N 90°50'43.1"O Altura: 1,882 m

#### 6.2.2. Animales

6.2.2.1. 111 ratones CD-1 de 10 semanas con un peso entre 25-30 gramos del Bioterio "Amarilis Saravia Gómez"

#### 6.2.3. Equipo

6.2.3.1. Laberinto de Morris

6.2.3.2. Caja de calor UGO Basile S.RL. Modelo: 58000-845

6.2.3.3. Vortex Fisher Scientific Touch Mixer 120V Modelo: 945410

6.2.3.4. Balanza analítica Precision Mettler Toledo

6.2.3.5. Cámara Canon colocada en un agudo de 90° sobre el laberinto de Morris

6.2.3.6. Computadora Hp Envy x 360

6.2.3.7. Estufa

#### 6.2.4. Reactivos

6.2.4.1. Experimentación

6.2.4.1.1. Clorhidrato de escopolamina (Sigma, ST. Luis, USA)

6.2.4.1.2. Solución salina

6.2.4.1.3. N-acetilcisteína (Sigma, ST. Luis, USA)

6.2.4.1.4. Tinte negro soluble en agua no tóxico (Tinta china 518, Pelikan)

#### 6.2.5. Programas

6.2.5.1. Trox Trac: Programa de Windows optimizado para rastrear animales. Versión 2.91, Universidad de Coruña. España (A. Rodriguez et al., 2017).

#### 6.2.6. Materiales para experimentación

6.2.6.1. Beaker de 10 mL

6.2.6.2. Tubos con tapa plásticos de 10 mL

6.2.6.3. Espátula

6.2.6.4. Micropipeta de 1000 microlitros

6.2.6.5. Jeringas de 1 mL

6.2.6.6. Sondas orogástricas para ratón

6.2.6.7. Termómetro

6.2.6.8. Cronómetro

6.2.6.9. Lámparas de calor con bombillas adicionales

6.2.6.10. Toallas de papel

6.2.6.11. Red de pesca para limpiar el laberinto entre pruebas / animales

### 6.3. Declaración de Ética

6.3.1. Todos los procedimientos experimentales en animales se llevaron a cabo de acuerdo con la Guía del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (publicación NIH, No. 80-23, revisada en 1996) y por la ley de bienestar animal de Guatemala, ACUERDO GUBERNATIVO NÚMERO 210-2017. Los

protocolos fueron sometidos a evaluación por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Ref. CICUAL-CCQQF-01-2021

#### 6.4. Diseño Experimental

Se utilizaron ratones CD-1 macho de 10 semanas (n=8) con un peso aproximado de 25-30 gramos, lo cuales se mantuvieron desde su nacimiento a una temperatura de  $22^{\circ} \pm 3^{\circ}$ , humedad 40-60%, con un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, con comida y agua *ad libitum* y con control de comportamientos innatos. Estos fueron aclimatados en sus cajas por grupos de experimentación por un periodo de 5 días, antes de comenzar con la experimentación.

El número de ratones por grupo de experimentación fue definido mediante la desviación estándar obtenida en la validación del método, utilizando el software G-Power. El número de ratones por grupo no fue menor de 5 ni mayor de 9 asegurando así la variabilidad intragrupo y el poder discriminar entre grupos.

Se realizó una validación previa del laberinto de Morris y del software de seguimiento ToxTrac mediante la comparación de datos por registro manual, para asegurar la fiabilidad de software y el control de variables en el laberinto de Morris.

##### 6.4.1. Grupos de Experimentación

###### Controles

6.4.1.1. Control negativo: escopolamina (3 mg/kg)

6.4.1.2. Control: solución salina

6.4.1.3. Control positivo: N-acetilcisteína + escopolamina (100 mg/kg y 3 mg/kg respectivamente)

###### Grupos de experimentación

6.4.1.4. *Tagetes lucida* Cav. + escopolamina (100 mg/kg y 3 mg/kg respectivamente)

6.4.1.5. *Tagetes lucida* Cav. + escopolamina (200 mg/kg y 3 mg/kg respectivamente)

6.4.1.6. *Valeriana prionophylla* Standl. + escopolamina (100 mg/kg y 3 mg/kg respectivamente)

6.4.1.7. *Valeriana prionophylla* Standl. + escopolamina (200 mg/kg y 3 mg/kg respectivamente)

6.4.1.8. *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth + escopolamina (100 mg/kg y 3 mg/kg respectivamente)

6.4.1.9. *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth + escopolamina (200 mg/kg y 3 mg/kg respectivamente)

#### 6.4.2. Tratamiento

Clorhidrato de escopolamina (Sigma, ST. Luis, USA) fue disuelto en solución estéril inyectable y administrado vía intraperitoneal. N-acetilcisteína (Sigma, ST. Luis, USA) y los extractos experimentales fueron disueltos en DMSO 1.5% y administrados vía oral a partir de sonda orogástrica.

El esquema del tratamiento de cada grupo de experimentación se realizó en 3 tiempos. En el tiempo 0, se administraron los extractos (*Tagetes lucida* Cav., *Valeriana prionophylla* Standl y *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth) y el control de N-acetilcisteína, dependiendo que grupo correspondiera, todos por vía oral. 30 minutos después del tiempo 0 se administraron los controles de escopolamina y solución salina, por vía intraperitoneal. Finalmente 60 minutos después del tiempo 0 se inició la experimentación colocando al ratone en el modelo (Rubio et al., 2007).

#### 6.4.3. Laberinto de Morris

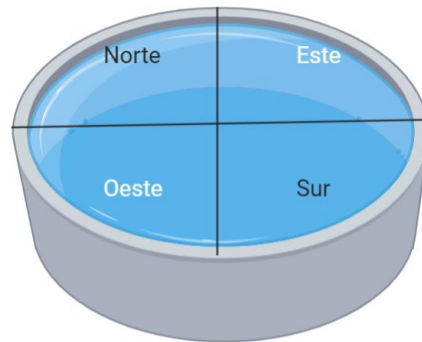
##### 6.4.3.1. Descripción

Se evaluó la pérdida de memoria mediante el laberinto de Morris (Morris, 1984), el cual consiste en una piscina circular (104 cm de diámetro en la parte superior y 48 cm de altura) con una superficie interna sin rasgos distintivos, la cual se encuentra llena con agua con un tinte negro soluble en agua no tóxico y con temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , está dividida en cuatro cuadrantes iguales y poseerá una plataforma transparente (8 cm de diámetro y 29-32 cm de altura) la cual se centra en uno de los cuatro cuadrantes de la piscina y se sumergirá 1 cm debajo de la superficie del agua para que sea invisible en la superficie. La piscina contenía varias señales visuales prominentes. La trayectoria de cada ratón mientras nadaba desde la posición inicial hasta la plataforma se monitoreará usando “Trox trac” como software de seguimiento.



#### 6.4.3.2. Condiciones y especificaciones (Vorhees & Williams, 2006).

El laberinto de Morris estuvo lleno de agua a una temperatura de  $25\text{ C} \pm 1^\circ$  durante toda la experimentación para evitar que la temperatura afectara la latencia de nada de los ratones. En las paredes de los cuatro cuadrantes del laberinto de Morris (Figura No. 5) se colocaron señales extra-laberinto prominentes visibles para el ratón.



**Figura No. 7 Cuadrantes del laberinto de Morris**

El experimentador y la señales extra-laberinto (computadoras, luces, equipo, etc.) estuvieron ubicados en la misma posición durante todos los días de experimentación. Se verificó que el agua este limpia al momento de iniciar la experimentación con cada ratón. Se cambió el agua de laberinto 1 vez al día, al finalizar la experimentación de ese día para asegurar la limpieza de esta.

#### 6.4.3.3. Metodología

El día 1 de experimentación se inició con la ADAPTACIÓN. Se dedicó a que los ratones pudieran adaptarse al laberinto, el agua de la piscina no tenía ningún colorante y la plataforma estaba colocada en el centro del laberinto sobresaliendo 1 cm sobre el nivel del agua para que esta fuera visible para el ratón (Bimonte-Nelson, Daniel, & Koebele, 2015; Can et al., 2018; Jung et al., 2016).

Se colocó al ratón sobre la plataforma por un tiempo de 20 segundos al inicio del entrenamiento (este paso solo se realizó 1 vez por cada ratón). Posteriormente se colocó al ratón en uno de los cuatro cuadrantes del laberinto bajándolo suavemente al ratón evitando que la cabeza entre primero en contacto con el agua, el ratón estaba viendo hacia la pared del laberinto al momento de ser colocando en el agua. El ratón

tuvo 60 segundos para encontrar la plataforma, si el ratón no encontró la plataforma en este periodo de tiempo, se guió suavemente hacia esta. Una vez el ratón encontró la plataforma, este pudo permanecer en ella por un período de 10 segundos. Al finalizar cada prueba se limpió el laberinto con una red y se agitó suavemente el agua para distribuir / eliminar escombros y señales olfativas antes de comenzar el ensayo del próximo animal. Cuando todos los ratones de un mismo grupo finalizaron la primera prueba, el proceso se repitió 2 veces más, para hacer un total de 3 pruebas para cada ratón. Las pruebas tuvieron un intervalo de 10-15 minutos entre cada una y los ratones fueron colocados en una posición inicial diferente en cada prueba.

**Tabla No. 3 Posición en la que se colocó al ratón dentro del laberinto de Morris en la fase de Adaptación.**

No. de prueba de adaptación	Día 1
1	Norte
2	Este
3	Oeste

Al finalizar las 3 pruebas los ratones se secaron con un paño y posteriormente se colocaron en una caja de calor para asegurar un secado total.

Del día 2 al 6 de experimentación se realizó el ENTRENAMIENTO de los ratones (Bimonte-Nelson et al., 2015; Can et al., 2018), se hicieron 3 pruebas para cada ratón, se llenó la piscina y adicionó colorante con el objetivo que el ratón no pudiera visualizar que estaba debajo del agua, la plataforma estaba colocada en el cuadrante Sur del laberinto sumergida 1 cm debajo del nivel del agua para evitar que esta fuera visible para el ratón, así mismo esta estuvo a una distancia equidistante de la pared lateral y del medio del laberinto. La plataforma estuvo ubicada en el mismo cuadrante en cada prueba durante todos los días de la experimentación.

Se colocó al ratón en uno de los tres cuadrantes del laberinto donde no se encontraba la plataforma, (Tabla No. 4) este se bajó suavemente evitando que la cabeza entrara primero en contacto con el agua primero, el ratón estuvo viendo hacia la pared del laberinto al momento de ser colocado en el agua. El ratón tuvo 60 segundos para

encontrar la plataforma, si el ratón no llegó a encontrar la plataforma en este período de tiempo, se guiará suavemente hacia la plataforma. Una vez el ratón estuviera en la plataforma, este debía permanecer en ella por un periodo de 10 segundos. Al finalizar cada prueba se limpió el laberinto con una red y se agitó suavemente el agua para distribuir / eliminar escombros y señales olfativas antes de comenzar ensayo del próximo animal. El proceso se repitió 2 veces más, para hacer un total de 3 pruebas para cada ratón. Las pruebas tuvieron un intervalo de 10-15 minutos entre cada una y los ratones serán colocaron en una posición inicial diferente en cada prueba.

**Tabla No. 4 Posiciones en las que se colocaron a los ratones dentro del laberinto de Morris en la fase de Experimentación.**

No. de prueba	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	Oeste	Este	Norte	Oeste	Este
2	Norte	Oeste	Este	Norte	Oeste
3	Este	Norte	Oeste	Este	Norte

Al finalizar las 3 pruebas lo ratones se secaron con un paño y posteriormente se colocaron en una caja de calor para asegurar un secado total.

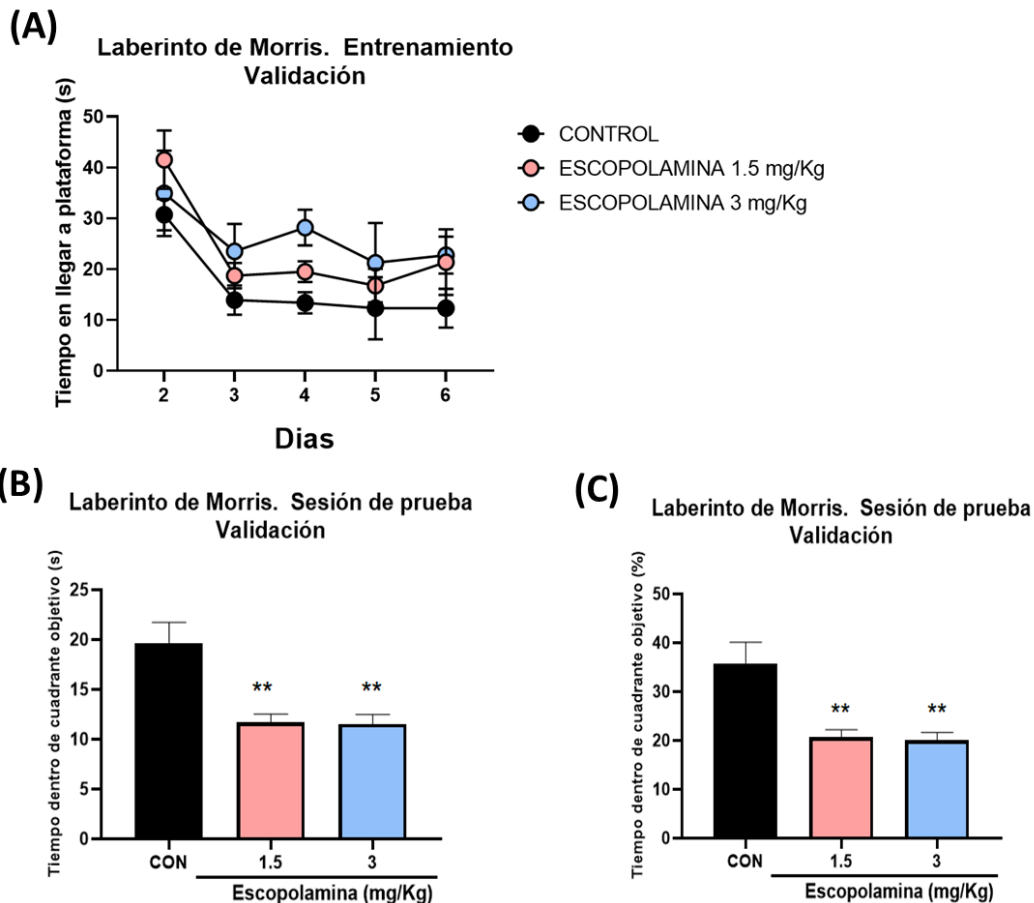
El día 7 de experimentación se realizó la PRUEBA FINAL en el laberinto de Morris (Bimonte-Nelson et al., 2015; Can et al., 2018; Jung et al., 2016; Rubio et al., 2007). Se retiró la plataforma del laberinto de Morris para que el ratón no tuviera donde apoyarse, se llenó la piscina y se adiciono colorante. Se colocó al ratón en el cuadrante NORTE del laberinto donde no se encuentra la plataforma, se bajó suavemente evitando que la cabeza entrara primero en contacto con el agua, el ratón estuvo viendo hacia la pared del laberinto al momento de ser colocando en el agua. El ratón tuvo 90 segundos de nado. Una vez finalizados los 90 segundo el ratón se secó con un paño y se colocó en una caja de calor para asegurar un secado total. Al finalizar cada prueba se limpió el laberinto con una red y se agitó suavemente el agua para distribuir / eliminar escombros y señales olfativas antes de comenzar con el próximo ensayo, la prueba final se repitió una única vez.

## **6.5. Análisis Estadístico**

Los datos (Tiempo de nado o latencia) se analizaron utilizando el software estadístico Prism 8.0.1 (GraphPad, San Diego, CA, USA). Todos los datos se expresaron como la media  $\pm$  error estándar de la media (S.E.M.). Las comparaciones estadísticas se realizaron entre cambios de parámetro (medida en tiempo 0- medida en tiempos posteriores) utilizando ANOVA de dos vías entre los grupos tratados con tratamiento experimental y tratados con vehículo, seguido de la prueba posterior de comparación Dunnett. Los valores de  $P < 0.05$  se consideraron estadísticamente significativos. Los datos se normalizaron para todos los grupos en cada día individual dividiendo cada valor en los valores promedios del grupo escopolamina.

## 7. Resultados

Se realizó la validación del uso de escopolamina (ESC) en el modelo de Laberinto Acuático de Morris. Para esto se evaluaron a los ratones por un periodo de 7 días, el día 1 consistió en la adaptación de los ratones al modelo, por lo cual no se recopilaban datos; del día 2 al 6 se realizaron el entrenamiento el cual consistió en 3 ensayos para cada ratón; el día 7 se realizó una prueba final en la cual se retiró la plataforma del modelo y se evaluó tiempo de estancia del ratón en el cuadrante donde estaba la plataforma. Para la validación de la ESC se utilizaron 2 concentraciones: 1.5 mg/kg y 3 mg/kg, durante el entrenamiento la concentración de 3 mg/kg mostró un mayor efecto, mientras que en la prueba final ambas concentraciones fueron significativamente diferentes al control  $P < 0.01$  (Figura No. 1).

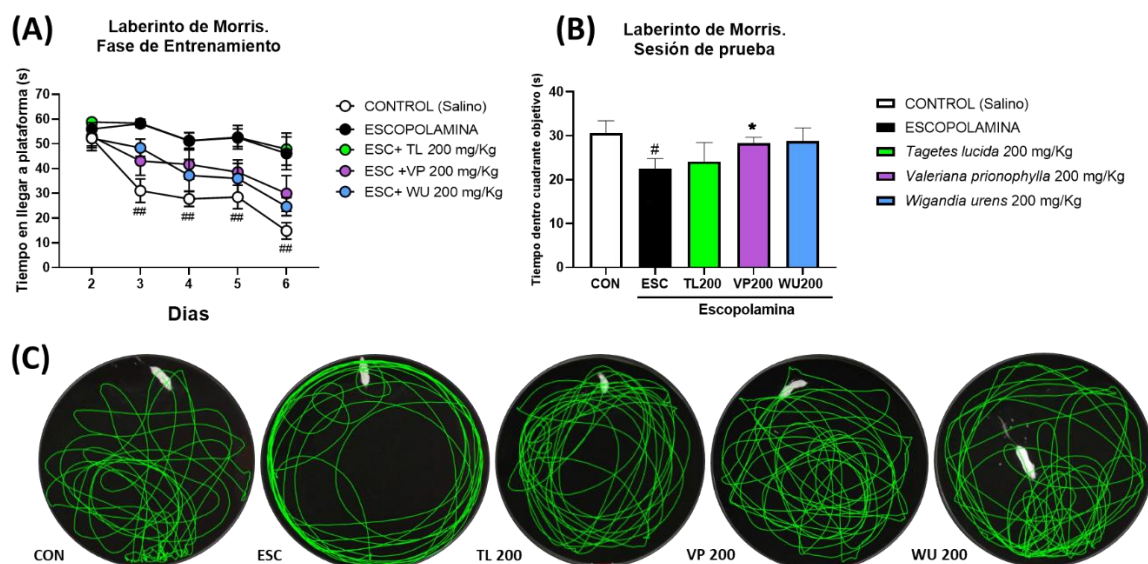


**Figura No. 1. Validación de la concentración de escopolamina en un el modelo de Laberinto Acuático de Morris en ratones macho CD-1 de 10 semanas (n=5 por grupo).** (A) Fase de entrenamiento día 2-6. (B) Prueba final día 7 expresada en tiempo de estancia del ratón en el cuadrante

objetivo (Cuadrante Sur). (C) Prueba final día 7 expresada en porcentaje de tiempo de estancia del ratón en el cuadrante objetivo. Los datos presentados representan  $\pm$  S.E.M.  $** P < 0.01$  indicando una diferencia significativa comparado con el grupo CON.

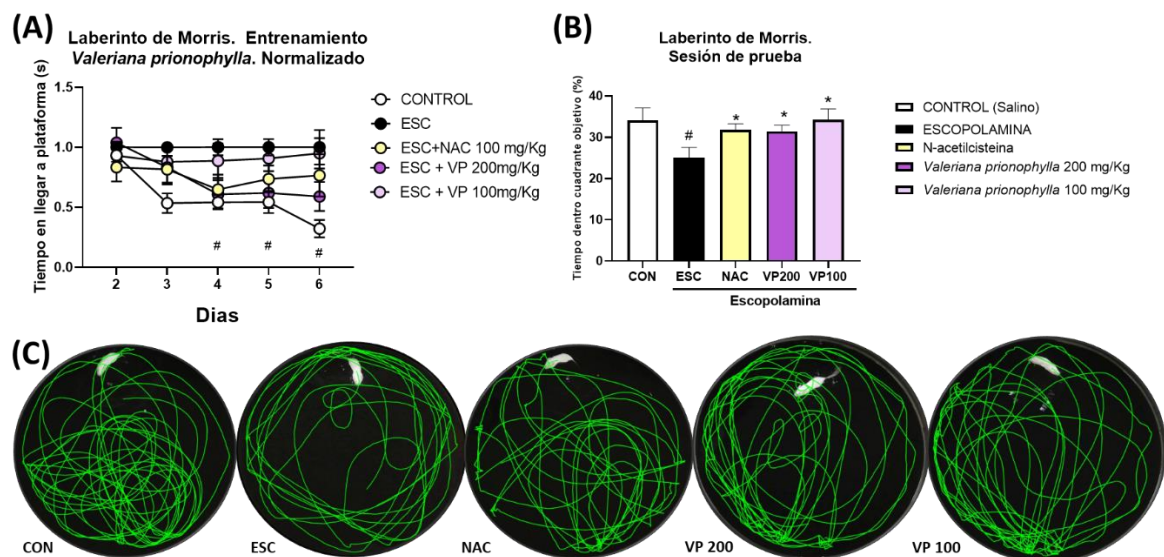
Para la evaluación del potencial neuroprotector de 3 plantas de uso tradicional en Guatemala (*Tagetes lucida* Cav. (TL), *Valeriana prionophylla* Standl. (VP) y *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth. (WU)). Se inició con una concentración de 200 mg/kg (Figura No. 2). El grupo de TL fue el extracto que menor neuroprotección obtuvo comparado con el control de ESC, tanto en el entrenamiento como en la prueba final, por lo cual no se continuo con la evaluación a una concentración de 100 mg/kg.

Los extractos de VP y WU se evaluaron a 200 mg/kg y 100 mg/kg (Figura No. 3 y Figura No. 4) comparándolas con un control normal salino (CON), un control negativo de ESC 3 mg/kg y un control positivo de N-Acetilcisteína (NAC) 100 mg/kg. Se obtuvo una diferencia significativa entre el control de ESC y CON  $P < 0.05$ , así como entre el control de ESC y NAC  $P < 0.05$ . En el extracto de VP (Figura 3) la concentración de 200 mg/kg mostró mejores resultados que la de 100 mg/kg durante el entrenamiento. En la prueba final tanto la concentración de 200 mg/kg como la de 100 mg/kg fueron significativamente diferentes al control de ESC  $P < 0.05$ . En el extracto de WU (Figura No. 4) se obtuvo una mejor neuroprotección frente a ESC a 200 mg/kg, tanto en el entrenamiento como en la prueba final sin que esta llegara a tener una significancia de  $P < 0.05$ .

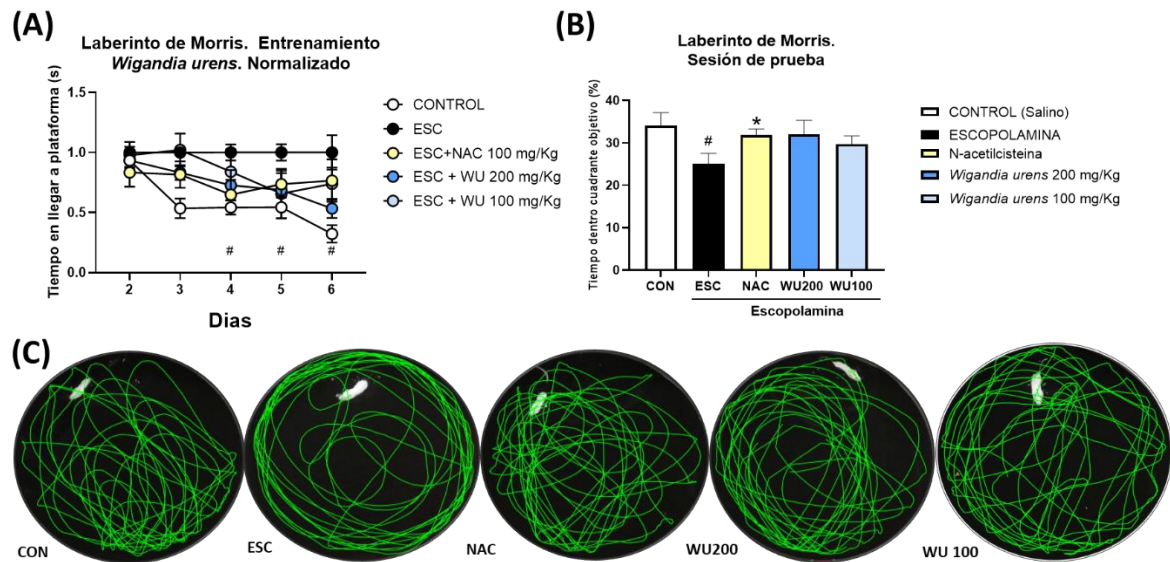


**Figura No. 2.** Evaluación inicial de los extractos de *Tagetes lucida* Cav. (TL), *Valeriana prionophylla* Standl. (VP) y *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth. (WU) a una concentración de

**200 mg/kg en ratones macho CD-1 de 10 semanas (n=8 por grupo).** (A) Fase de entrenamiento día 2-6. (B) Prueba final día 7 expresada en tiempo de estancia del ratón en el cuadrante objetivo. (C) Trayectoria representativa de los grupos CON y ESC durante la prueba final día 7. Los datos presentados representan  $\pm$  S.E.M. ##  $P < 0.01$  #  $P < 0.05$  \*  $P < 0.05$  indicando una diferencia significativa comparada con el grupo CON, CON y el grupo ESC respectivamente.



**Figura No. 3. Evaluación del extracto de *Valeriana prionophylla* Standl. (VP) a 200 mg/kg y 100 mg/kg en ratones macho CD-1 de 10 semanas (n=8 por grupo).** (A) Fase de entrenamiento día 2-6. (B) Prueba final día 7 expresada en el porcentaje de tiempo de estancia del ratón en el cuadrante objetivo. (C) Trayectoria representativa de los grupos VP 200 y VP 100 durante la prueba final día 7. Los datos presentados representan  $\pm$  S.E.M. #  $P < 0.05$  \*  $P < 0.05$  indicando una diferencia significativa comparada con el grupo CON y el grupo ESC respectivamente.



**Figura No. 4. Evaluación del extracto de *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth. (WU) a 200 mg/kg y 100 mg/kg en ratones macho CD-1 de 10 semanas (n=8 por grupo). (A) Fase de entrenamiento día 2-6. (B) Prueba final día 7 expresada en el porcentaje de tiempo de estancia del ratón en el cuadrante objetivo. (C) Trayectoria representativa de los grupos WU 200 y WU 100 durante la prueba final día 7. Los datos presentados representan  $\pm$  S.E.M. #  $P < 0.05$  \*  $P < 0.05$  indicando una diferencia significativa comparada con el grupo CON y el grupo ESC respectivamente.**



## 8. Discusión

El uso tradicional de plantas medicinales es una característica distintiva de civilizaciones antiguas mesoamericanas la cual se mantiene aún en la actualidad (Geck et al., 2020; Vargas & Andrade-Cetto, 2018). A pesar de esto la etnofarmacología orientada a la exploración de enfermedades neurodegenerativas es una rama que se encuentra poco estudiada en Guatemala. El presente estudio evaluó el potencial neuroprotector frente a la pérdida de memoria ocasionada por escopolamina (ESC) de 3 plantas nativas con uso tradicional en Guatemala en afecciones del sistema nervioso central (SNC). Para esto se inició con la validación de la concentración de (ESC) para el modelo del laberinto acuático de Morris. Seguidamente se evaluaron los extractos de *Valeriana prionophylla* Standl. (VP), *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth. (WU) y *Tagetes lucida* Cav. (TL). De los cuales VP y WU mostraron potencial neuroprotector, siendo el extracto de VP el que mostró resultados significativos tanto en la concentración de 200 mg/kg como en la de 100 mg/kg.

Como modelo para evaluar la memoria espacial se utilizó el laberinto acuático de Morris (Barnes, Danysz, & Parsons, 1996; Morris, 1984). Este es un modelo se evaluó la memoria de adquisición (durante el entrenamiento) y de referencia (durante la prueba final) (Vorhees & Williams, 2006). Los neurotransmisores colinérgicos como la acetilcolina son los principales responsables de la transmisión sináptica, por tanto, la disfunción de esta puede causar pérdida de memoria. Esto se ha observado en el caso del Alzheimer donde la ausencia de acetilcolina es uno de los efectos primarios de la enfermedad (Álvarez Castillo et al., 2020). Como inductor de pérdida de memoria se utilizó ESC, ya que se ha demostrado que esta afecta la adquisición de la memoria (Flood & Cherkin, 1986), mediante el antagonismo competitivo no específico de los receptores colinérgicos muscarínicos (Ana Bernal et al., 2013; Can et al., 2018; Cherny et al., 2001; VADEMECUM, 2015). El producto de esto se traduce en un déficit en el aprendizaje y memoria al interrumpir la neurotransmisión colinérgica (Kim et al., 2018). Por lo cual esta molécula es usada comúnmente para inducir pérdida de memoria en sujetos experimentales (Burešová & Bureš, 1982; Stevens, 1981). Los resultados de la validación para la concentración de 1.5 mg/kg y la de 3 mg/kg de ESC mostraron una diferencia significativa respecto al control salino, lo cual evidencia que la pérdida de memoria producida por ESC es constante a partir de 1.5 mg/kg. Como control positivo se utilizó N-acetilcisteína (NAC) el cual ha demostrado minimizar el daño cortical causado por la administración de ESC (Al-Quraishy et al., 2020); así como producir un efecto antioxidante y regular la disminución de la noradrenalina, dopamina, serotonina, histamina y ATP en el hipocampo, producida por la administración ESC (Al omaili et al., 2019).

*Valeriana prionophylla* Standl. (VP) es una planta que se encuentra descrita en varios países de Centroamérica y México. En Guatemala se encuentra descrita en al menos 8 departamentos (Cruz, 2005). Esta especie es conocida tradicionalmente como valeriana del monte, se usa como sedante y antiespasmódico (De Souza et al., 2011), para tratar afecciones nerviosas (Cáceres, 2009a; Cruz, 2005). Como extracción hidroalcohólica se ha comprobado que tiene efectos relajantes, ansiolíticos, antidepressivos y sedantes en modelos *in vivo* (campo abierto, varilla de rotación, laberinto en cruz elevado (EPM), la natación forzada) en ratones; así mismo demostró tener efectos vaso relajante como extracto etanolico en un modelo *in vivo* en ratas (Reis et al., 2013). No hay gran variedad estudios específicos sobre esta especie en particular, pero se infiere que puede tener actividades similares a otras plantas del mismo género que se ha demostrado que actúa a nivel del SNC. Esto debido a sus similitudes químicas, por ejemplo, la presencia de valepotriatos que se encuentran en *V. pulchella*, *V. condamoana*, *V. micropterina*, y VP (Chavadej et al., 1985), los cuales se ha demostrado que actúan a nivel del SNC (Maurmann, 2006; Tufik, Lobo, & Medeiros, 1992), y se encuentran en mayor proporción en VP. Los datos demostraron que tanto la concentración de 200 mg/kg como la de 100 mg/kg protegen de los daños inducidos por la ESC 3 mg/kg, lo cual sugiere que ambas concentraciones del extracto de VP son neuroprotectoras frente al mecanismo de la ESC que causa pérdida de memoria. Esto concuerda con un anterior estudio *in vitro* que demostró que VP tiene un efecto moderado inhibitorio de la acetilcolinesterasa (Dayrin Ortiz et al., 2013). Siendo este uno de los posibles mecanismos de acción de VP contra la ESC, debido a que se impide la destrucción de la acetilcolina y produce un efecto parasimpaticomimético indirecto mediante el aumento de la concentración de acetilcolina en el receptor. VP también comparte ciertos metabolitos secundarios con *Valeriana officinalis* L. (De Souza et al., 2011), en la cual el efecto neuroprotector y los mecanismos de acción están más estudiados, como la influencia en las vías de señalización que involucran Ca (2+) y el estado redox de las células (Malva, Santos, & Macedo, 2004), la actividad citoprotectora (De Oliveria et al., 2009) y los mecanismos contra la hiperexcitabilidad, estrés oxidativo, asfixia y / o agotamiento de ATP (Santos et al., 2016). Pudiendo ser estos mecanismos alternativos que también influyan en la neuroprotección de VP siendo nuevos puntos de partida para posteriores investigaciones de VP.

*Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth (WU) se encuentra descrita en al menos 9 departamentos de Guatemala (D. Ortiz & Lopez, 2010). Se ha reportado su uso en la fitoterapia maya en el tratamiento de la epilepsia y síntomas psicológicos (Hitziger, 2016). Esta especie casi no se ha estudiado en modelo *in vitro* y la presente investigación representa el primer estudio en un modelo *in vivo*. Los

datos demostraron que la concentración de 200 mg/kg presentó un mejor efecto de neuroprotección contra la ESC respecto a la concentración de 100 mg/kg. El efecto de la concentración de 200 mg/kg presentó valores similares a los del control N-acetilcisteína, sin llegar a ser significativos. Este primer reporte crea un precedente para futuras investigaciones en WU, pudiendo ser que el efecto neuroprotector no sea a través gadel mecanismo de la acetilcolina, el cual es el que más comúnmente se evalúa al utilizar como control ESC (Ana Bernal et al., 2013; Cherny et al., 2001).

Con respecto a *Tagetes lucida* Cav. (TL) se evaluó la concentración de 200 mg/kg. TL se encuentra descrita en al menos 9 departamentos de Guatemala (Cáceres, 2009a; Cruz, 2005). Se usa por la población maya para tratar patologías del SNC como el susto, nerviosismo y epilepsia (Hitziger, 2016). Es conocida por los aztecas como "yauhtli" y era un remedio para dolencias como fiebre, miedo, demencia, derrame cerebral (Adams et al., 2007). Se ha demostrado que tiene actividad antidepresiva, ansiolítica y sedante *in vivo* utilizando extractos acuosos en un modelo de natación forzada (Guadarrama et al., 2008; Mata et al., 2018). A pesar de tener cierto efecto inhibitorio sobre la acetilcolinesterasa en un estudio *in vitro* (Dayrin Ortiz et al., 2013). TL no demostró tener buena actividad contra la pérdida de memoria ocasionada por la escopolamina (Figura 1), esto sugiere que el efecto tradicional reportado contra la demencia no se da por la vía de la acetilcolina sino por otros mecanismos como neurotransmisión serotoninérgica o gabaérgica en las cuales se ha demostrado que el extracto de TL puede influir (González-Trujano, Gutiérrez-Valentino, Hernández-Arámburo, Díaz-Reval, & Pellicer, 2019; Pérez-Ortega & González-Trujano, 2016).

Este estudio demostró la relación que puede existir entre las plantas con usos tradicionales para tratar afecciones del sistema nervioso central y su actividad y potencial neuroprotector. Así mismo algunos de los extractos de las plantas evaluadas redujeron significativamente la pérdida de memoria causada por la escopolamina, lo cual puede dar pauta a futuras investigaciones que evalúen más específicamente fracciones de extractos y mecanismo de acción. Sin embargo, para este estudio solo se evaluaron parámetros de comportamiento sin tomar encuentra pruebas complementarias como análisis histológicos y pruebas biológicas, por lo que estudios posteriores contribuirían en mostrar evidencia de estos efectos.

## 9. Conclusiones

- 9.1. Se comprobó que existe una relación entre algunas plantas nativas de Guatemala con usos tradicionales para afecciones del sistema nervioso central y la presencia de una actividad neuroprotectora contra la pérdida de memoria producida por la escopolamina.
- 9.2. Se determinó que tanto la concentración de 1.5 mg/kg como la de 3 mg/kg de escopolamina produce pérdida de memoria en ratones macho de 10 semanas en el modelo de laberinto acuático de Morris.
- 9.3. Las concentraciones de 100 mg/kg y 200 mg/kg del extracto de *Valeriana prionophylla* Standl. presentaron un efecto de neuroprotección frente a la pérdida de memoria ocasionada por escopolamina en el modelo de laberinto acuático de Morris utilizando ratones macho CD-1 de 10 semanas.
- 9.4. La concentración de 200 mg/kg del extracto de *Wigandia urens* (Ruiz & Pav.) Kunth presentó un efecto de neuroprotección frente a la pérdida de memoria ocasionada por la escopolamina similar al que produce el estándar de N-Acetilcisteína en el modelo de laberinto acuático de Morris utilizando ratones macho CD-1 de 10 semanas.
- 9.5. El extracto de *Tagetes lucida* Cav. no mostró un efecto de neuroprotección frente a la a la pérdida de memoria ocasionada por la escopolamina en el modelo de laberinto acuático de Morris utilizando ratones macho CD-1 de 10 semanas.

## 10. Recomendaciones

Se recomienda respaldar los datos obtenidos utilizando el mismo diseño y esquema de tratamiento en más modelos de comportamiento de ratones como: placa agujerada, tarea de evitación pasiva, laberinto en Y, prueba de reconocimiento de objetos, etc. Se recomienda realizar análisis de actividad inhibición de acetilcolinesterasa tanto *in vitro* como *ex vivo*, para confirmar los mecanismos de acción de los extractos utilizados. Así mismo se deben de realizar el aislamiento fraccionado bioguiado de los extractos para determinación de los grupos de metabolitos responsables de la actividad neuroprotectora.

## 11. Referencias

- Abril Carreres, M. A., Ticó Falguera, N., & Garreta Figuera, R. (2004). Enfermedades neurodegenerativas. *Rehabilitación*, 38(6), 318–324. [https://doi.org/10.1016/s0048-7120\(04\)73487-8](https://doi.org/10.1016/s0048-7120(04)73487-8)
- Adams, M., Gmünder, F., & Hamburger, M. (2007, September 25). Plants traditionally used in age related brain disorders-A survey of ethnobotanical literature. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 113, pp. 363–381. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.07.016>
- Al-Quraishy, S., Dkhil, M. A., Abdel-Gaber, R., Zrieq, R., Hafez, T. A., Mubarak, M. A., & Abdel Moneim, A. E. (2020). Myristica fragrans seed extract reverses scopolamine-induced cortical injury via stimulation of HO-1 expression in male rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(11), 12395–12404. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07686-8>
- Al omairi, N. E., Al-Brakati, A. Y., Kassab, R. B., Lokman, M. S., Elmahallawy, E. K., Amin, H. K., & Abdel Moneim, A. E. (2019). Soursop fruit extract mitigates scopolamine-induced amnesia and oxidative stress via activating cholinergic and Nrf2/HO-1 pathways. *Metabolic Brain Disease*, 34(3). <https://doi.org/10.1007/s11011-019-00407-2>
- Álvarez Castillo, A., Rodríguez Alfaro, J. M., & Salas Boza, A. (2020). Influencia de la enfermedad de Alzheimer en los sistemas de neurotransmisión sináptica. *Revista Medica Sinergia*, 5(4), e442. <https://doi.org/10.31434/rms.v5i4.442>
- Ana Bernal, LastName, Gómez, D., López, S., & Acosta, M. R. (2013). Implicaciones neuropsicológicas, neurológicas y psiquiátricas en un caso de intoxicación por escopolamina. *Psychol. Av. Discip*, 7, 1900–2386. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/2972/297226904005.pdf>
- Antonova, E., Parslow, D., Brammer, M., Simmons, A., Williams, S., Dawson, G. R., & Morris, R. (2011, September 7). Scopolamine disrupts hippocampal activity during allocentric spatial memory in humans: An fMRI study using a virtual reality analogue of the Morris Water Maze. *Journal of Psychopharmacology*, Vol. 25, pp. 1256–1265. <https://doi.org/10.1177/0269881110379285>
- Aquino, R., Cáceres, A., Morelli, S., & Rastrelli, L. (2002). An extract of *Tagetes lucida* and its phenolic constituents as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 65(12), 1773–1776. <https://doi.org/10.1021/np020018i>
- Azad, N. A., Al Bugami, M., & Loy-English, I. (2007). Gender differences in dementia risk factors. *Gender Medicine*, 4(2), 120–129. [https://doi.org/10.1016/S1550-8579\(07\)80026-X](https://doi.org/10.1016/S1550-8579(07)80026-X)

- Barbosa Filho, J. M., Medeiros, K. C. P., Diniz, M. de F. F. M., Batista, L. M., Athayde-Filho, P. F., Silva, M. S., ... Quintans-Júnior, L. J. (2006). Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *16*(2), 258–285.  
<https://doi.org/10.1590/s0102-695x2006000200021>
- Barnes, C. A., Danysz, W., & Parsons, C. G. (1996). Effects of the Uncompetitive NMDA Receptor Antagonist Memantine on Hippocampal Long-term Potentiation, Short-term Exploratory Modulation and Spatial Memory in Awake, Freely Moving Rats. *European Journal of Neuroscience*, *8*(3), 565–571. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1996.tb01241.x>
- Batista, P., & Pereira, A. (2016). *Impact and Prevention of Neurodegenerative Diseases in Society: Alzheimer and Parkinson*. Retrieved from <http://www.smgebooks.com/Neurodegenerative-Diseases/chapters/ND-16-01.pdf>
- Baumgart, M., Snyder, H. M., Carrillo, M. C., Fazio, S., Kim, H., & Johns, H. (2015). Summary of the evidence on modifiable risk factors for cognitive decline and dementia: A population-based perspective. *Alzheimer's and Dementia*, *11*(6), 718–726.  
<https://doi.org/10.1016/j.jalz.2015.05.016>
- Bimonte-Nelson, H. A., Daniel, J. M., & Koebele, S. V. (2015). The mazes. In *The Maze Book: Theories, Practice, and Protocols for Testing Rodent Cognition* (pp. 37–72).  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2159-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2159-1_2)
- Bishop, G. M., & Robinson, S. R. (2004). The amyloid paradox: Amyloid- $\beta$ -metal complexes be neurotoxic and neuroprotective. *Brain Pathology*, *14*(4), 448–452.  
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2004.tb00089.x>
- Bonilla-Jaime, H., Guadarrama-Cruz, G., Alarcon-Aguilar, F. J., Limón-Morales, O., & Vazquez-Palacios, G. (2015). Antidepressant-like activity of *Tagetes lucida* Cav. is mediated by 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors. *Journal of Natural Medicines*, *69*(4), 463–470.  
<https://doi.org/10.1007/s11418-015-0909-5>
- Bourbonnais-Spear, N., Awad, R., Merali, Z., Maquin, P., Cal, V., & Arnason, J. T. (2007). Ethnopharmacological investigation of plants used to treat susto, a folk illness. *Journal of Ethnopharmacology*, *109*(3), 380–387. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.08.004>
- Buccafusco, J. J., Terry, A. V., Webster, S. J., Martin, D., Hohnadel, E. J., Bouchard, K. A., & Warner, S. E. (2008). The scopolamine-reversal paradigm in rats and monkeys: The importance of computer-assisted operant-conditioning memory tasks for screening drug candidates. *Psychopharmacology*, *199*(3), 481–494. [https://doi.org/10.1007/s00213-007-0887-](https://doi.org/10.1007/s00213-007-0887-8)

- Burešová, O., & Bureš, J. (1982). Radial maze as a tool for assessing the effect of drugs on the working memory of rats. *Psychopharmacology*, 77(3), 268–271.  
<https://doi.org/10.1007/BF00464578>
- Cáceres, A. (2008). *Evaluación de la actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa por diez especies medicinales y aromáticas nativas como posible fuente para el tratamiento de afecciones de la memoria*. Retrieved from <https://docplayer.es/86692438-Informe-final-proyecto-fodecyt-armando-caceres-estrada-investigador-principal.html>
- Cáceres, A. (2009a). *Vademécum nacional de plantas medicinales*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/101519725>
- Cáceres, A. (2009b). *Variabilidad genética, desarrollo de tecnología agrícola y caracterización fitofarmacéutica de una especie de valeriana (Valeriana prionophylla) nativa de guatemala con potencial como sedante natural*. Retrieved from <https://fondo.senacyt.gob.gt/portal/index.php/catalogo/15-codigo/320-102-2006-agropecuaria>
- Can, M. Van, Tran, A. H., Pham, D. M., Dinh, B. Q., Le, Q. Van, Nguyen, B. Van, ... Nishijo, H. (2018). Willughbeia cochinchinensis prevents scopolamine-induced deficits in memory, spatial learning, and object recognition in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 214, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.06.035>
- Cañigueral, S., Dellacassa, E., & Bandoni, A. L. (2003). Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? *Lat. Am. J. Pharm*, 22(3), 265–278. Retrieved from [http://www.latanjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP\\_22\\_3\\_6\\_1\\_S966JS548J.pdf](http://www.latanjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf)
- Céspedes, C. L., Avila, J. G., Martínez, A., Serrato, B., Calderón-Mugica, J. C., & Salgado-Garciglia, R. (2006). Antifungal and antibacterial activities of Mexican tarragon (*Tagetes lucida*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(10), 3521–3527.  
<https://doi.org/10.1021/jf053071w>
- Chavadej, S., Becker, H., & Weberling, F. (1985). Further investigations of valepotriates in the Valerianaceae. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, 7(4), 167–168.  
<https://doi.org/10.1007/BF02097255>
- Cherny, R. A., Atwood, C. S., Xilinas, M. E., Gray, D. N., Jones, W. D., McLean, C. A., ... Bush, A. I. (2001). Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits  $\beta$ -amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. *Neuron*, 30(3), 665–676.  
[https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00317-8](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00317-8)
- Cruz, B. (2005). *CARACTERIZACIÓN DE CINCO EXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES*



*NATIVAS DE GUATEMALA, VALIDADAS CIENTÍFICAMENTE* (UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA).

Retrieved from <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QF925.pdf>

- Cryan, J. F., & Holmes, A. (2005, September). Model organisms: The ascent of mouse: Advances in modelling human depression and anxiety. *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol. 4, pp. 775–790. <https://doi.org/10.1038/nrd1825>
- De Deyn, P. P., & Van Dam, D. (2011). General introduction to animal models of human conditions. *Neuromethods*, 48, 3–13. [https://doi.org/10.1007/978-1-60761-898-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-898-0_1)
- De Oliveria, D. M., Barreto, G., De Andrade, D. V. G., Saraceno, E., Aon-Bertolino, L., Capani, F., ... Giraldez, L. D. (2009). Cytoprotective effect of valeriana officinalis extract on an in vitro experimental model of parkinson disease. *Neurochemical Research*, 34(2), 215–220. <https://doi.org/10.1007/s11064-008-9749-y>
- De Souza, M. M., Holzmann, I., Cechinel Filho, V., Mora, T. C., Cáceres, A., Martínez, J. V., & Cruz, S. M. (2011). Evaluation of behavioral and pharmacological effects of hydroalcoholic extract of Valeriana prionophylla Standl. from Guatemala. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/312320>
- Flood, J. F., & Cherkin, A. (1986). Scopolamine effects on memory retention in mice: A model of dementia? *Behavioral and Neural Biology*, 45(2), 169–184. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(86\)90750-8](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(86)90750-8)
- Gabriela, G. C., Javier, A. A. F., Elisa, V. A., Gonzalo, V. P., & Herlinda, B. J. (2012). Antidepressant-like effect of Tagetes lucida Cav. extract in rats: Involvement of the serotonergic system. *American Journal of Chinese Medicine*, 40(4), 753–768. <https://doi.org/10.1142/S0192415X12500565>
- Galindo, A., Kestler, R., & Mendez, D. (2009). *Determinación de Caracteres Farmacobotánicos de Plantas Utilizadas Popularmente para el Tratamiento de Hongos Fitopatógenos* (UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA). Retrieved from <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB941.pdf>
- Geck, M. S., Cristians, S., Berger-González, M., Casu, L., Heinrich, M., & Leonti, M. (2020, July 31). Traditional Herbal Medicine in Mesoamerica: Toward Its Evidence Base for Improving Universal Health Coverage. *Frontiers in Pharmacology*, Vol. 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01160>
- Gobierno de España. (n.d.). *Guía de Buena Práctica Clínica en Alzheimer y otras demencias*.

- Retrieved from <https://fiapam.org/wp-content/uploads/2012/10/guabuenapractica.pdf>
- González-Trujano, M. E., Gutiérrez-Valentino, C., Hernández-Arámburo, M. Y., Díaz-Reval, M. I., & Pellicer, F. (2019). Identification of some bioactive metabolites and inhibitory receptors in the antinociceptive activity of *Tagetes lucida* Cav. *Life Sciences*, *231*.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.05.079>
- Guadarrama, G., Alarcon, F. J., Lezama, R., Vazquez, G., & Bonilla, H. (2008). Antidepressant-like effects of *Tagetes lucida* Cav. in the forced swimming test. *Journal of Ethnopharmacology*, *120*(2), 277–281. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.013>
- Heinrich, M., Rimpler, H., & Barrera, N. A. (1992). Indigenous phytotherapy of gastrointestinal disorders in a lowland Mixe community (Oaxaca, Mexico): Ethnopharmacologic evaluation. *Journal of Ethnopharmacology*, *36*(1), 63–80. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(92\)90062-V](https://doi.org/10.1016/0378-8741(92)90062-V)
- Hitziger, M. (2016). *Mayan phytotherapy in Guatemala: A transdisciplinary study for ethnographic documentation and local empowerment* (ETH ZÜRICH). <https://doi.org/10.3929/ethz-a-010735971>
- Holzmann, I., Filho, V. C., Caceres, A., Vicente, J., Cruz, S. M., & Maria De Souza, M. (2016). Antidepressant-like effect of hydroalcoholic extract of *Valeriana prionophylla* Standl. from Guatemala: Evidence for the involvement of the monoaminergic systems. *Article in International Journal of Phytopharmacy*, *6*(1), 14–26. <https://doi.org/10.7439/ijpp.v6i1.2962>
- Instituto Indigenista Nacional. (1971). *Aspectos de la medicina popular del área rural de Guatemala*. Guatemala.
- Jellinger, K. A. (2010). Basic mechanisms of neurodegeneration: A critical update. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *14*(3), 457–487. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2010.01010.x>
- Jung, W. Y., Kim, H., Park, H. J., Jeon, S. J., Park, H. J., Choi, H. J., ... Ryu, J. H. (2016). The ethanolic extract of the *Eclipta prostrata* L. ameliorates the cognitive impairment in mice induced by scopolamine. *Journal of Ethnopharmacology*, *190*, 165–173.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.010>
- Khulbe, A., Pandey, S., & Sah, S. (2013). Antidepressant-like action of the hydromethanolic flower extract of *Tagetes erecta* L. in mice and its possible mechanism of action. *Indian Journal of Pharmacology*, *45*(4), 386–390. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.115026>
- Kim, M. S., Lee, D. Y., Lee, J., Kim, H. W., Sung, S. H., Han, J. S., & Jeon, W. K. (2018). *Terminalia chebula* extract prevents scopolamine-induced amnesia via cholinergic modulation and anti-oxidative effects in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *18*(1).

- <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2212-y>
- Kufer, J., Heinrich, M., Förther, H., & Pöll, E. (2010). Historical and modern medicinal plant uses — the example of the Ch'orti' Maya and Ladinos in Eastern Guatemala. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(9), 1127–1152. <https://doi.org/10.1211/jpp.57.9.0008>
- Lara, R., Sandoval, H., Jiménez, M., De la Roca, D., & Guzmán, A. (1991). Determinación de la actividad inmunomodulatoria de los extractos de zarzaparrilla, quilete y pericón. *Memorias. VI Congreso Nacional Microbiológico*.
- Long, F., Yang, H., Xu, Y., Hao, H., & Li, P. (2015). A strategy for the identification of combinatorial bioactive compounds contributing to the holistic effect of herbal medicines. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/srep12361>
- López, F., & Jiménez, B. (1990). *Tagetes lucida* Cav. I, Inhibitory effect on smooth muscle contractility. *Pascal-Francis.Inist.Fr*, 51(1), 71–76. Retrieved from <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=5434955>
- Loubon, C. O., & Franco, J. C. (2010). Neurofisiología del aprendizaje y la memoria. Plasticidad neuronal. *Archivos de Medicina*, 6(1). <https://doi.org/10.3823/048>
- Malva, J. O., Santos, S., & Macedo, T. (2004). Neuroprotective properties of *Valeriana officinalis* extracts. *Neurotoxicity Research*, 6(2), 131–140. <https://doi.org/10.1007/BF03033215>
- Mata, S., Pérez, G., & Reyes, R. (2018). Medicinal plants for the treatment of fright (susto) and evil eye (mal de ojo). analysis of their possible effects on the central nervous system by transdermal and inhalatory administration. plantas medicinales para el tratamiento del susto y mal de ojo. *Revista Etnobiología*, 16, 30–47. Retrieved from <https://revistaetnobiologia.mx/index.php/etno/article/view/305>
- Matthew Warren, T. (2014). *Targeting neurodegeneration in Alzheimer's disease using natural products derived from Maya traditional medicine* (Ottawa-Carleton Institute of Biology). Retrieved from [https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:R3OLJpZ4rNkJ:https://ruor.uottawa.ca/bitstream/10393/30688/1/Taylor\\_Matthew\\_2014\\_thesis.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=gt](https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:R3OLJpZ4rNkJ:https://ruor.uottawa.ca/bitstream/10393/30688/1/Taylor_Matthew_2014_thesis.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=gt)
- Maurmann, N. (2006). *Valeriana glechomifolia* : crescimento e produção de valepotriatos em diferentes meios nutritivos e avaliação preliminar de atividade neurofarmacológica (Universidade Federal do Rio Grande do Sul. ). Retrieved from <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/24076>
- McNamara, P. (2011). *Dementia, Treatments and developments* (Vol. 1; P. McNamara, Ed.).

Retrieved from

<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=0PjvSjtjxo8C&oi=fnd&pg=PA1&dq=Epidemiology+of+dementia&ots=XssLDD15gW&sig=lfNEr6kWmNafeKCcvYci2u2SWJI#v=onepage&q&f=false>

Molinuevo, J.L., & Peña-Casanova, J. (2009). *Guía oficial para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones* (Vol. 8; Jose Molinuevo & J. Peña-Casanova, Eds.).

Retrieved from

[https://www.sen.es/pdf/guias/Guia\\_oficial\\_de\\_practica\\_clinica\\_en\\_demencias\\_2009.pdf](https://www.sen.es/pdf/guias/Guia_oficial_de_practica_clinica_en_demencias_2009.pdf)

Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, *11*(1), 47–60. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(84\)90007-4](https://doi.org/10.1016/0165-0270(84)90007-4)

Navarrete, E., Prospéro, O., Hudson, R., & Guevara, R. (2000). Enfermedades neurodegenerativas que cursan con demencia. *Gaceta Médica de México*, *136*(6). Retrieved from

<https://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2001/gm012q.pdf>

Nayeli, M. B., Maribel, H. R., Enrique, J. F., Rafael, B. P., Margarita, A. F., Macrina, F. M., ... Manasés, G. C. (2020). Anti-inflammatory activity of coumarins isolated from *Tagetes lucida* Cav. *Natural Product Research*, *34*(22), 3244–3248.

<https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1553172>

Organización mundial de la salud. (1992). *The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders*. Retrieved from <https://www.who.int/classifications/icd/en/GRNBOOK.pdf>

Organización mundial de la Salud. (2006). *NEUROLOGICAL DISORDERS public health challenges*. Suiza.

Organización Mundial de la Salud. (2020, September). Demencia. Retrieved May 8, 2021, from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia>

Ortiz, D., & Lopez, J. (2010). *Actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa por extractos de ocho especies vegetales nativas de guatemala usadas en el tratamiento de afecciones nerviosas* (UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA F). Retrieved from

<https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB968.pdf>

Ortiz, Dayrin, Valdez, A., & Caceres, A. (2013). Actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa por extractos de 18 especies vegetales nativas de Guatemala usadas en el tratamiento de afecciones nerviosas. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, *22*(1), 17–25. Retrieved from

<http://www.revistasguatemala.usac.edu.gt/index.php/qyf/article/view/176>

- Pérez-Ortega, G., & González-Trujano, M. (2016). *Tagetes lucida* Cav. : Etnobotánica, fitoquímica y farmacología de sus propiedades tranquilizantes. *Revista De*. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037887411630040X>
- Perez Sabino Juan, F., Muñoz Wug Manuel, A., Mérida Reyes Max, S., Oliva Bessie, E., Taracena, E., Gaitán isabel, C., ... Ribeiro da Silva Antonio, J. (2017). Chemical composition and evaluation of the antimicrobial activity of *Valeriana prionophylla* Standl. from Guatemala. *65th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA 2017)*, 4. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1608496>
- Piccinelli, A. L., Arana, S., Caceres, A., Di Villa Bianca, R. D. E., Sorrentino, R., & Rastrelli, L. (2004). New lignans from the roots of *Valeriana prionophylla* with antioxidative and vasorelaxant activities. *Journal of Natural Products*, 67(7), 1135–1140. <https://doi.org/10.1021/np049879c>
- Quiñones, A. (2007). *Comparación del efecto del extracto de Valeriana prionophylla Standl versus placebo sobre la ansiedad de 30 pacientes en tratamiento de quimioterapia por cáncer de mama, durante 4 semanas, en hospital de cancerología Incan Guatemala* (UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA). Retrieved from [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/02/879175/comparacion-del-efecto-del-extracto-de-valeriana-prionophylla-s\\_WBCmsR2.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/02/879175/comparacion-del-efecto-del-extracto-de-valeriana-prionophylla-s_WBCmsR2.pdf)
- Reis, M. R., Oliveira Filho, A. A. De, Rodrigues, L. S. U., Araújo, J. P., Maciel, P. M. P., De Albuquerque, J. M., ... Silva, D. F. (2013). Involvement of potassium channels in vasorelaxant effect induced by *valeriana prionophylla* Standl. in rat mesenteric artery. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/147670>
- Renzo Lanfranco, G., Manríquez-Navarro, P., Leyla Avello, G., & Canales-Johnson, A. (2012). Evaluación de la enfermedad de Alzheimer en etapa temprana: Biomarcadores y pruebas neuropsicológicas. *Revista Medica de Chile*, Vol. 140, pp. 1191–1200. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872012000900014>
- Riquett, D. (2007). *Análisis por espectrofotometría de isovaltrato en extracto de hoja y raíz de Valeriana (Valeriana prionophylla Standl.) de dos localidades diferentes de Guatemala*. (UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA ). Retrieved from <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/MUPLAM2.pdf>
- Rizzi, L., Rosset, I., & Roriz-Cruz, M. (2014). Global epidemiology of dementia: Alzheimer's and vascular types. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/908915>

- Roca, C. (2005). *EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA ACCIÓN SEDANTE E HIPNÓTICA DE UN ELIXIR FITOTERAPÉUTICO Y LA COMBINACIÓN DE LAS PLANTAS ORIGINALES*. (UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA). Retrieved from <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QF926.pdf>
- Rodriguez, A., Zhang, H., Klaminder, J., Brodin, T., Andersson, P. L., & Andersson, M. (2017). ToxTrac: A fast and robust software for tracking organisms. *Métodos En Ecología*, 9(3), 460–464. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12874>
- Rodriguez, J. J. L., Ferri, C. P., Acosta, D., Guerra, M., Huang, Y., Jacob, K. S., ... Prince, M. (2008). Prevalence of dementia in Latin America, India, and China: a population-based cross-sectional survey. *The Lancet*, 372(9637), 464–474. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61002-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61002-8)
- Rubio, J., Dang, H., Gong, M., Liu, X., Chen, S. lin, & Gonzales, G. F. (2007). Aqueous and hydroalcoholic extracts of Black Maca (*Lepidium meyenii*) improve scopolamine-induced memory impairment in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 45(10), 1882–1890. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.04.002>
- Salguero Rodríguez, I. E. (1989). *TAGETES LUCIDA (PERICÓN) ANTIESPAMÓDICOS PIANAS MEDICINALES*. Universidad San Carlos de Guatemala , Guatemala.
- Santos, G., Giraldez-Alvarez, L. D., Ávila-Rodriguez, M., Capani, F., Galembeck, E., Neto, A. G., ... Andrade, B. (2016). SUR1 receptor interaction with hesperidin and linarin predicts possible mechanisms of action of Valeriana officinalis in Parkinson. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 8(MAY). <https://doi.org/10.3389/fnagi.2016.00097>
- Schott, J. M., Harkness, K., Barnes, J., Della Rocchetta, A. I., Vincent, A., & Rossor, M. N. (2003). Amnesia, cerebral atrophy, and autoimmunity. *Lancet*, 361(9365), 1266. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12983-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12983-2)
- Seifhosseini, S., Jahanshahi, M., Moghimi, A., & Aazami, N. S. (2011). The effect of scopolamine on avoidance memory and hippocampal neurons in male wistar rats. *Basic and Clinical Neuroscience*.
- Seifhosseini, S., Jahanshahi, M., Moghimi, A., Aazami, N. S., Antonova, E., Parslow, D., ... Morris, R. (2011, September 7). Scopolamine disrupts hippocampal activity during allocentric spatial memory in humans: An fMRI study using a virtual reality analogue of the Morris Water Maze. *Basic and Clinical Neuroscience*, Vol. 25, pp. 1256–1265. <https://doi.org/10.1177/0269881110379285>
- Siegel, R., Collings, P., & Díaz, J. (1977). En el uso de Tagetes lucida y Nicotiana rustica como una

- mezcla Huichol fumar : El Aztec " yahutli " con efectos alucinógenos sugerentes. *Botánica Económica*. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/4253793>
- SIGSA. (n.d.). Enfermedades crónicas. Retrieved May 8, 2021, from <https://sigsa.mspas.gob.gt/datos-de-salud/morbilidad/enfermedades-cronicas>
- Stevens, R. (1981). Scopolamine impairs spatial maze performance in rats. *Physiology and Behavior*, 27(2), 385–386. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(81\)90285-7](https://doi.org/10.1016/0031-9384(81)90285-7)
- Tang, K. S. (2019, September 15). The cellular and molecular processes associated with scopolamine-induced memory deficit: A model of Alzheimer's biomarkers. *Life Sciences*, Vol. 233. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116695>
- Tewari, D., Stankiewicz, A. M., Mocan, A., Sah, A. N., Tzvetkov, N. T., Huminiecki, L., ... Atanasov, A. G. (2018, February 12). Ethnopharmacological approaches for dementia therapy and significance of natural products and herbal drugs. *Frontiers in Aging Neuroscience*, Vol. 10. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00003>
- Tufik, S., Lobo, L., & Medeiros, R. (1992). Efeitos de um concentrado de valepotriatos de valeriana sobre a sonolência diurna e parâmetros de sono noturno em voluntários sadios. *Folha Méd*, 6–43. Retrieved from <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-122998>
- UNICEF. (2018). En Guatemala el 49,8% de los niños sufre desnutrición crónica", María Claudia Santizo, Oficial de Nutrición en UNICEF Guatemala |. Retrieved May 8, 2021, from <https://www.unicef.es/noticia/en-guatemala-el-498-de-los-ninos-sufre-desnutricion-cronica-maria-claudia-santizo-oficial>
- VADMECUM. (2015, January 1). Escopolamina . Retrieved May 8, 2021, from <https://www.vademecum.es/principios-activos-escopolamina-a04ad01>
- Vargas, J. M., & Andrade-Cetto, A. (2018). Ethnopharmacological field study of three Q'Eqchi communities in Guatemala. *Frontiers in Pharmacology*, 9(NOV). <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01246>
- Vorhees, C. V., & Williams, M. T. (2006). Morris water maze: Procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*, 1(2), 848–858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.116>
- Woodruff, T. M., Thundyil, J., Tang, S. C., Sobey, C. G., Taylor, S. M., & Arumugam, T. V. (2011). Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke. *Molecular Neurodegeneration*, Vol. 6. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-11>
- Yamilet Gutiérrez, G., Ramón Scull, L., Gastón García, S., & Amanda Montes, Á. (2018). Evaluación farmacognóstica, fitoquímica y biológica de un extracto hidroalcohólico de

Tagetes lucida Cavanilles | Gutiérrez Gaitén | Revista Cubana de Plantas Medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 23(2). Retrieved from <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/669/308>



## 12. Anexos

### 12.1. Anexo 1

Fotografías tomadas durante la parte experimental





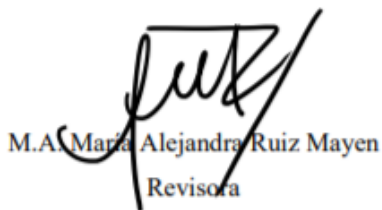
David Morales Rodas

Autor



Rodrigo Castañeda, PhD

Asesor



M.A. María Alejandra Ruiz Mayen  
Revisora



M.A. Lucrecia Martínez de Hasse

Directora de la Escuela de Química Farmacéutica



M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto

Decano