

**Estudio etnobotánico, fitoquímico, farmacológico y toxicológico de principios activos de origen natural o síntesis de relevancia terapéutica en enfermedades crónicas degenerativas I**

**Clave SIP: 20240379. Proyecto anual (corto plazo)**

**Directora: Dra. María Estela Meléndez Camargo, ENCB-IPN**

## **1. Resumen**

México es un país con una gran diversidad biológica, lo que permite hacer uso de las plantas medicinales para preservar la salud como alternativas terapéuticas por diversas poblaciones. Por lo que es necesario corroborar la actividad farmacológica y toxicológica de extractos de plantas para conocer su efecto, asegurando la inocuidad y efectividad de éstas. Nuestro laboratorio ha aportado resultados interesantes sobre plantas medicinales que han sido difundidos. En esta investigación, se estudió la actividad antiedematosa (antiinflamatoria) de *Aristolochia schippii* de la comunidad de las Margaritas en el municipio de Catemaco, Veracruz en el edema plantar inducido por el veneno de *Bothrops asper*, así como de *Artemisia ludoviciana* ssp, del Estado de México, las cuales indujeron un efecto antiinflamatorio en el modelo agudo de formalina. así mismo se determinó la dosis letal 50 de ambos extractos, que mostraron nula toxicidad. En el estudio etnobotánico realizado en la comunidad de San Lucas, Ojitlan, estado de Oaxaca se encontró que *Scutellaria orichalcea* es utilizada como diurético, otros extractos acuosos de especies obtenidas del Estado de México, como *Eriobotrya japonica* (níspero) y *Roseda luteola* (moco de güilo), así como, *Plantago mayor* L del estado de Morelos, indujeron efecto diurético. La *verbena officinalis* produjo el efecto antilitiásico y *Persea americana* mostró un probable efecto protector en la insuficiencia renal aguda (IRA). Se validó que el estilo de vida influye importantemente para el tratamiento de la diabetes Mellitus tipo 2 en sujetos mexicanos. Se logró la estandarización de la extracción de la microglía de la médula espinal de ratón para evaluar el dolor agudo y el papel de IL-36γ.

## **Introducción**

México es un país con una gran diversidad en especies vegetales y una tradición en el uso de éstas (Kumate, 1993). Desde tiempos remotos hasta nuestros días, la población mexicana ha recurrido al uso de las plantas medicinales. Éstas se utilizan para el tratamiento de diversos padecimientos, debido a que las encuentran más accesibles, sobre todo en las comunidades que no cuentan con servicios de salud. Son consideradas menos tóxicas por ser naturales y presentar hipotéticamente menos efectos adversos. La mayoría de las especies utilizadas, no habían sido evaluadas experimentalmente, como es el caso de *Artemisia ludoviciana* ssp, que se utiliza en procesos inflamatorios. *Scutellaria orichalcea* de la comunidad de San Lucas, Ojitlán estado de Oaxaca, *Eriobotrya japonica* (níspero) y *Roseda luteola* (moco de güilo) y el extracto de *Verbena carolina* en la litiasis por citar algunas. También se consideró importante evaluar la relación entre el índice de masa corporal, la obesidad, diabetes mellitus tipo 2 entre lo que se evaluó.

La inflamación es una respuesta fisiopatológica a cualquier estímulo nocivo introducido en el huésped. Estos estímulos incluyen agentes radiantes, químicos, físicos, infecciosos e inmunes y en la mayoría de los casos se acompañan de dolor. Los mecanismos de las reacciones inflamatorias agudas y crónicas son complejos, varían de un tejido a otro y dependen del agente etiológico. El mecanismo de acción fundamental de los analgésicos-antiinflamatorios es la inhibición de la biosíntesis y liberación de prostaglandinas. Estos fármacos presentan efectos tóxicos, el más frecuente es la irritación del tracto gastrointestinal, además de ser costosos, por lo que la mayoría de la población recurre al uso de plantas medicinales. La flora de México es sin duda una de las principales riquezas del país (Volák y Estodola, 1997; Rzedowski y Rzedowski, 1979; Martínez, 1996) y son diversas las especies utilizadas con fines terapéuticos, tal es el caso de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. (palo dulce) (Salazar, 2007, Pablo y col., 2015), que se utilizan comúnmente como cicatrizantes, desinfectantes, analgésicos, desinflamante y diurético. Sin evaluarse farmacológicamente se encontraban las especies estudiadas en este proyecto.

**El objetivo del proyecto es:** realizar el estudio etnobotánico, fitoquímico, farmacológico y toxicológico de plantas medicinales usadas empíricamente por diversas comunidades para el tratamiento de padecimientos que producen graves problemas de salud en nuestro país, enfocados principalmente a padecimientos crónicos degenerativos.

#### **Objetivos y metas cumplidas, así como la justificación del incumplimiento en algún caso**

**1) Llevar a cabo el estudio etnobotánico y la evaluación de la actividad diurética de plantas medicinales.** Revisión bibliográfica, recolecta, identificación de las especies vegetales, estudio etnobotánico, análisis fitoquímico y obtención de los extractos para medir las funciones renales mediante la medición del balance hídrico y electrolítico, así como la depuración de creatinina usando como fármaco de referencia la furosemida. **2) Estudiar el efecto anti-litiásico y en la IRA de especies vegetales.** Evaluar los extractos de la *Verbena carolina* en la litiasis inducida y de otros extractos en la insuficiencia renal aguda (IRA). Evaluar la actividad biológica. Inducir la litiasis con etilenglicol en la rata. Demostrar la presencia de cálculos. Realizar las pruebas de función renal en ambos modelos en la rata. Medir la secreción tubular renal, el balance hídrico y electrolítico **3) Evaluar la actividad antiinflamatoria de diferentes extractos en modelos murinos** Los modelos murinos de inflamación utilizados son agudos, usando como fármaco de referencia a la indometacina en todos los modelos con diferentes inductores de inflamación. En todos los casos se determinará la DL50 y el análisis fitoquímico. **4) Elaborar un modelo predictivo del desarrollo de nefropatía diabética en sujetos.** Validar un modelo predictivo que integre variables clínicas, antropométricas, bioquímicas, metabolómicas y genéticas que permita identificar sujetos mexicanos diagnosticados con diabetes tipo 2 antes de los 40 años que puedan desarrollar nefropatía diabética en tres años de seguimiento sin modificación en el tratamiento. **5) Estandarización para la extracción de médula espinal de ratón para un modelo de dolor agudo.** Se procederá a hacer una incisión en la línea media dorsal con bisturí desde la región occipital hasta la región sacra, mediante palpación identificaremos las vértebras cervicales hasta las sacras, utilizando microscopio para microcirugía se disecará por planos hasta obtener la columna vertebral lumbar, posteriormente se seleccionarán específicamente L4-L6 (secciones medulares utilizadas, ya que estas metámeras son las encargadas de la sensibilidad de las extremidades pélvicas y planta del pie).

## 2. Métodos y materiales

Introducción de los métodos de las diferentes actividades, inicialmente en el lugar de la colecta se realizó el estudio etnobotánico, se guardó un espécimen de cada especie. Se obtuvieron los extractos de todas las especies y se les realizó el análisis fitoquímico (Domínguez, 1978; Kuklinski, 2000). Para la evaluación farmacológica se utilizaron animales murinos que se mantuvieron de acuerdo con los lineamientos que marca la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (NOM-062-ZOO-1999, 2001).

**Meta 1.** Para la evaluación diurética, se formaron 3 grupos de ratas para cada una de las especies, el primero testigo (agua), al segundo una solución de furosemida (fármaco diurético, 4 mg/kg de pc), al tercero el extracto de las especies. La administración fue *per os*. Se obtuvieron muestras de orina y de sangre, a las que se les midió la concentración de sodio, potasio y creatinina. Se calculó el volumen urinario por minuto, así como las depuraciones de sodio, de potasio y de creatinina. Con éstas se evaluó el balance electrolítico y la velocidad de filtración glomerular en la rata (Meléndez y col., 2006 a,b; Meléndez-Camargo y col., 2014; Salazar, 2007). Se concluyó el estudio de los efectos diuréticos del extracto acuoso de *Scutellaria orichalceade* de la comunidad de San Lucas Ojitlán, Oaxaca, de *Eriobotrya japonica* (níspero) y *Roseda luteola* (moco de güilo) del Estado de México, así como *Plantago mayor* L del estado de Morelos. Como ejemplo de la evaluación del efecto diurético de una especie en estudio se describe con *Eriobotrya japonica* (níspero), para el estudio etnobotánico se realizaron 20 encuestas etnobotánicas en el municipio de San Lorenzo Tlalmimilolpan, Edomex, una vez elegida la planta, se realizó la colecta e identificación botánica de la materia vegetal y se realizó el análisis fitoquímico mediante reacciones de coloración y de precipitación en los extractos acuoso y etanólico. Se utilizaron ratas Wistar hembras de  $200 \pm 20$  g de peso corporal (p.c), se dividieron en tres grupos, el testigo, el de furosemida (4 mg/kg) y el del extracto acuoso de *Eriobotrya japonica* (níspero) a la dosis de 200 mg/kg, *per os* y se mantuvieron 6 horas en jaulas metabólicas, posteriormente se recolectaron las muestras de orina y se obtuvieron las de sangre, de las cuales se separó el suero; obteniendo las variables arriba descrita, para la determinación de la  $DL_{50}$  se utilizaron ratones NIH hembra, adultos, se formaron 5 grupos: el testigo y 4 con el extracto acuoso de *Eriobotrya japonica* (níspero) a las dosis de 1, 2, 4 y 8 g/kg de p.c. así para la determinación de la  $DL_{50}$  en todas las metas que se realizó (Meléndez-Camargo y col., 2014). **Meta 2.** La litiasis renal oxalocálcica se indujo por la administración conjunta de etilenglicol 0.75% y cloruro de amonio 0.5% durante 21 días. En las muestras se midieron la osmolalidad y las concentraciones de creatinina, sodio y potasio. Se midió, además, el volumen urinario por minuto. Se calcularon las depuraciones de creatinina, de sodio y de potasio. Una vez corroborada la urolitiasis se inició el tratamiento farmacológico con los extractos de *Verbena carolina*, por vía oral durante 21 días. La función renal se evaluó de la siguiente manera: las ratas se colocaron en jaulas metabólicas durante 6 horas para recolectar la orina, se sacrificaron para la obtención de muestras de sangre y la extracción de los riñones. En las muestras de suero y orina se midieron las concentraciones de sodio, potasio y creatinina, con estos datos se calcularon las excreciones fraccionales de sodio, potasio y la depuración de creatinina, además de éstas, se determinó el flujo urinario y las concentraciones de proteínas y glucosa en las muestras de orina, para medir la secreción, el balance hídrico y electrolítico, lo mismo para IRA con el extracto acuoso de *Persea americana* se realizaron las mismas determinaciones (Ávila y Meléndez, 2009; Estévez y col., 2012 y 2013; Meléndez-Camargo y col., 2014). Para la evaluación farmacológica de la actividad antiinflamatoria (**Meta 3**), inicialmente se realizó una investigación bibliográfica del uso

empírico de las especies, posteriormente el análisis fitoquímico de los extractos etanólico, acuoso y ácido. La evaluación farmacológica se llevó a cabo por el modelo del edema plantar en murino, se utilizaron ratones NIH adultos, hembra de  $25 \pm 5$  g de p.c., se distribuyeron en cinco grupos: testigo(vehículo), testigo intoxicado con veneno de *Bothrops asper* vía s.c (100µg/50 µL); testigo intoxicado con veneno de *Bothrops asper* + Indometacina vía i.p. (10 mg/kg de p.c.); testigo intoxicado con veneno de *Bothrops asper* + faboterápico vía i.p. (4.6 mg/kg de p.c.); testigo intoxicado con veneno de *Bothrops asper* + ext. de *Aristolochia schippi per os* (900 mg/kg de p.c. . La administración del veneno se llevó a cabo en la aponeurosis subplantar de la pata derecha, 30 minutos después de la administración por vía sc, se administraron los diferentes tratamientos. Al tiempo cero ((t=0 (antes de la inducción)), a los treinta minutos después de la inducción y a las 2 horas después de los tratamientos se midió el grosor de la pata derecha en el punto previamente indicado con ayuda del vernier. La determinación de la DL<sub>50</sub> se realizó igual para todos los extractos que fueron utilizados en las diferentes metas, los ratones NIH hembras adultas se distribuyeron en 5 grupos de 4 ratones cada uno: el testigo y 4 administrados con el extracto a las dosis de 1, 2, 4y 8 g/kg de p.c., *per os*, Al término del experimento se contabilizaron el número de animales vivos y muertos. Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de *Artemisia ludoviciana* ssp, del Estado de México, se realizó el mismo protocolo, pero es importante resaltar que se estableció en el laboratorio otro modelo de inducción de la inflamación utilizando como inductor formalina (Badilla y col., 2003; Dzoyem y col., 2017; Márquez-Flores y col., 2012 a y b; Pablo-Pérez y col., 2018).

**Meta 4. Elaborar un modelo predictivo del desarrollo de nefropatía diabética en sujetos.** Se realizó un análisis observacional de pacientes que habiten en la República Mexicana portadores de DMT2IT, los cuales serán pareados con pacientes que hayan sido diagnosticados con diabetes posterior a los 50 años, tomando en cuenta edad, sexo y tiempo de evolución de la enfermedad. De estos pacientes se llevó seguimiento a tres años, dividido en 4 visitas (a los 0, 12, 24 y 36 meses), en las cuales se llevaron a cabo las siguientes actividades: descripción de las características antropométricas: peso, talla, IMC, circunferencia de cintura y cadera. Este estudio tiene como objetivo comparar los efectos de una intervención en el estilo de vida sola (LSI) versus una intervención en el estilo de vida combinada con metformina (LSI+MET) sobre el control glucémico y los parámetros metabólicos en individuos mestizos mexicanos con prediabetes y sobrepeso/obesidad.

**Para la meta 5, Estandarización para la extracción de médula espinal de ratón para un modelo de dolor agudo.** Se utilizaron ratones C57BL/6 del bioterio del Hospital Infantil de México Federico Gómez, con una edad entre 6 y 8 semanas, mantenidos en condiciones libres de patógenos específicos. Todos los animales de experimentación fueron manipulados siguiendo lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y se sacrificaron mediante dislocación cervical, previa anestesia con CO<sub>2</sub>. A la hora 2, 4, 6, 12 y 24 después de la inyección subcutánea de formalina o solución salina se realizó una pequeña incisión en la piel que recubre L4-S1 seguida de la retracción de la musculatura paravertebral de la apófisis transversales vertebrales. Los procesos transversales L4 y L5 fueron extraídos para realizar PCRq de IL36 gamma e IL-36R. Se realizó la extracción de DNA de médula espinal y tálamo de ratones control e inyectados con formalina con el Kit de Bio-Rad, posteriormente se realizó PCR en tiempo real para IL-36gamma e IL-36R. Se corrieron geles de agarosa y se revelaron por trasluminiscencia.

### 3. Resultados

En la evaluación de la actividad diurética *Eriobotrya japonica* (**meta 1**), el flujo urinario (balance hídrico), las depuraciones y excreciones de sodio y potasio (balance electrolítico) en el grupo tratado con furosemida se incrementaron con respecto al grupo testigo. La velocidad de filtración glomerular no se modificó en ninguno de los grupos lo que indica que la furosemida y algunos extractos indujeron un efecto tubular directo, estos resultados avalan el uso que se les da en las comunidades estudiadas. La  $DL_{50}$  fue mayor a 8 g/kg para las especies estudiadas. El estudio etnobotánico arrojó que el níspero es una de las plantas que utilizan los pobladores de San Lorenzo Tlalmimilolpan Teotihuacan, (figura 1), para padecimientos renales la cuál no se ha evaluado para corroborar dicha actividad farmacológica, se recolectó y se identificó como *Eriobotrya japonica*. En el estudio realizado en San Lucas Ojitlán, Oaxaca, se entrevistaron un total de 17 personas dedicadas al uso de la Medicina Tradicional, se identificaron 36 especies en 25 familias botánicas, de las que destacan *Scutellaria orichalcea*. En el extracto acuoso de la especie se detectaron alcaloides, flavonoides, cumarinas, glucósidos cardiotónicos y compuestos fenólicos. La  $DL_{50}$  de ambas especies es mayor de 8 g/kg. En ambos extractos se evidenció la presencia de flavonoides, cumarinas, alcaloides, azúcares reductores, glucósidos cardiotónicos y además en extracto acuoso se evidenció la presencia de saponinas. Los ratones no presentaron signos de toxicidad a las diferentes dosis del extracto acuoso.

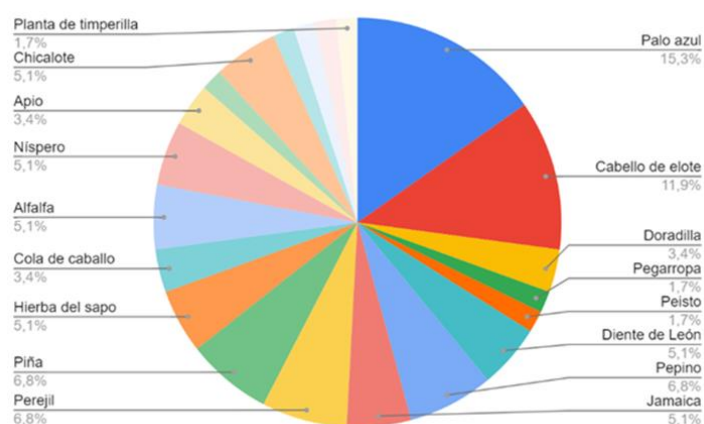


Figura 1. Plantas con actividad diurética utilizadas en la región de Teotihuacán. Estado de México.



Figura 2. níspero

**Meta 2.** El etilenglicol indujo la litiasis oxalocálcica, caracterizada por la disminución en la depuración de creatinina, en la excreción de sodio y potasio, así como por un aumento en la concentración sérica de creatinina y de oxalato de calcio en orina (precursor y formador de los cálculos renales) a los 21 días que nos representa la eliminación de los cristales de oxalato de calcio. El tratamiento durante 21 días con el extracto acuoso de *Verbena carolina* L., produjo que los valores de los parámetros evaluados se acercaran a los valores del grupo testigo lo que se muestra en la figura 3 (A-B). El 65% de los entrevistados emplea una rama para preparar un litro de decocción de *Verbena carolina* para el tratamiento de la urolitiasis. Se detectaron alcaloides, saponinas y azúcares reductores. La depuración de creatinina y flujo urinario aumentaron tras la administración del extracto de *Verbena carolina* (400 mg/mL) con respecto al grupo con urolitiasis, en tanto que la excreción urinaria de  $CaC_2O_4$  (figura 3

B) y de proteínas disminuyeron.

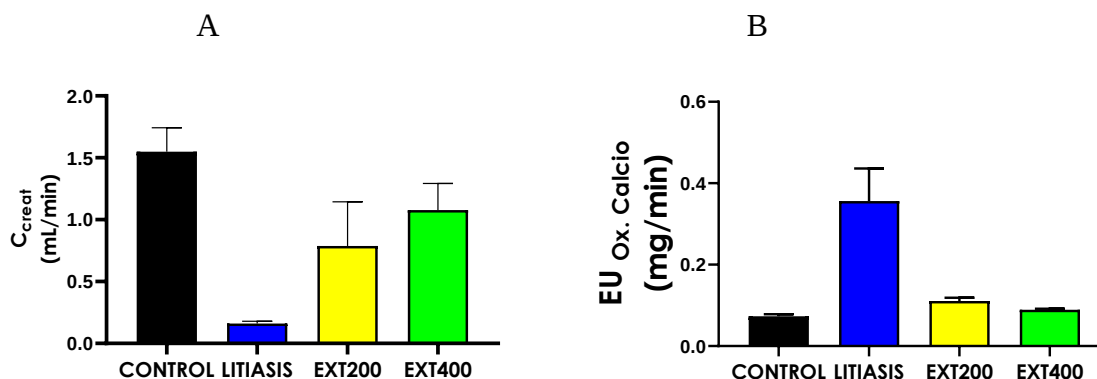


Figura 3. Efecto de la urolitiasis en: A) Depuración de creatinina (C<sub>creat</sub>) y B) Excreción urinaria de oxalato (EUoxalato). Se representa la media  $\pm$  el error estándar. n=6. ANOVA unifactorial. EXT200= grupo administrado con extracto de *Verbena carolina* L. a la dosis de 200mg/kg p.c., EXT400= grupo administrado con extracto de *Verbena carolina* L. a la dosis de 400mg/kg p.c.

Para cumplir con la meta 3, de evaluar el efecto antiinflamatorio de *Aristolochia schippii* en el edema plantar inducido por la mordedura de *Bothrops asper*, se realizó el estudio etnobotánico en la comunidad de Las Margaritas, Veracruz, donde la especie se emplea para tratar la mordedura de serpiente, la mayoría de las personas la usan como macerado alcohólico. En el análisis fitoquímico se determinaron diferentes metabolitos que se muestran en la tabla 1. La DL<sub>50</sub> es superior a 8 g/kg. El extracto de *Aristolochia schippii* a la dosis de 900mg/kg pc disminuyó el edema inducido por el veneno de la *Bothrops asper*, de forma similar al faboterápico (figura 4).

**Tabla 1. Metabolitos presentes en los extractos de *Aristolochia schippii***

| Metabolitos                     | Extracto ácido | Extracto etanólico | Extracto acuoso |
|---------------------------------|----------------|--------------------|-----------------|
| <i>Alcaloides</i>               | +              | +                  | +               |
| <i>Taninos: fenoles</i>         | -              | +                  | +               |
| <i>Azúcares reductores</i>      | -              | +                  | +               |
| <i>Glucósidos cardiotónicos</i> | -              | +                  | +               |

+ Presentes

- Ausente

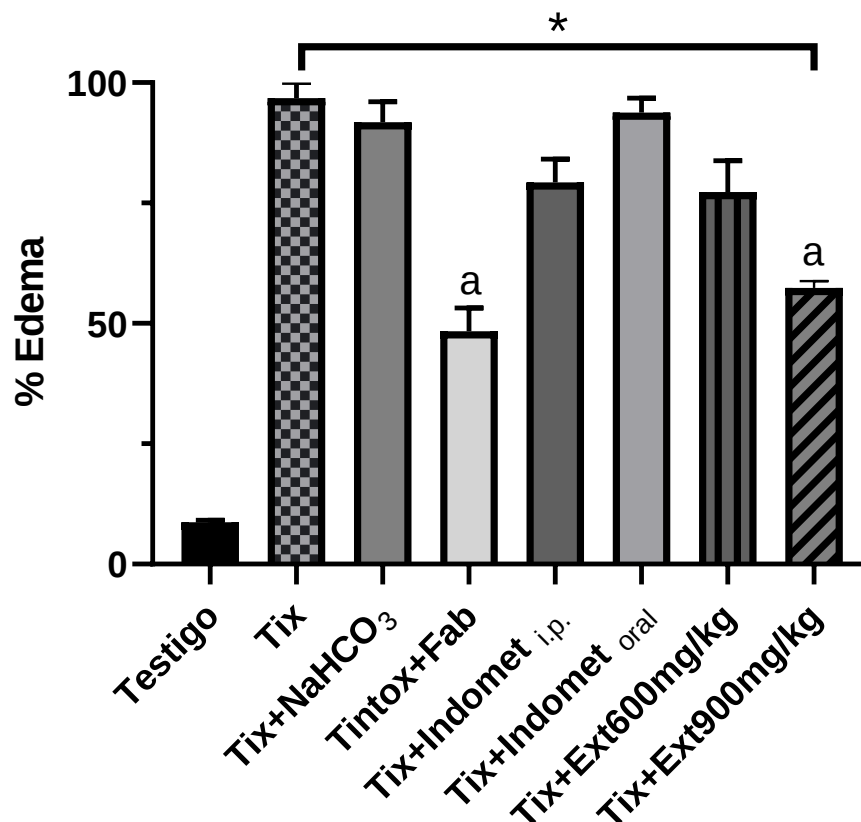


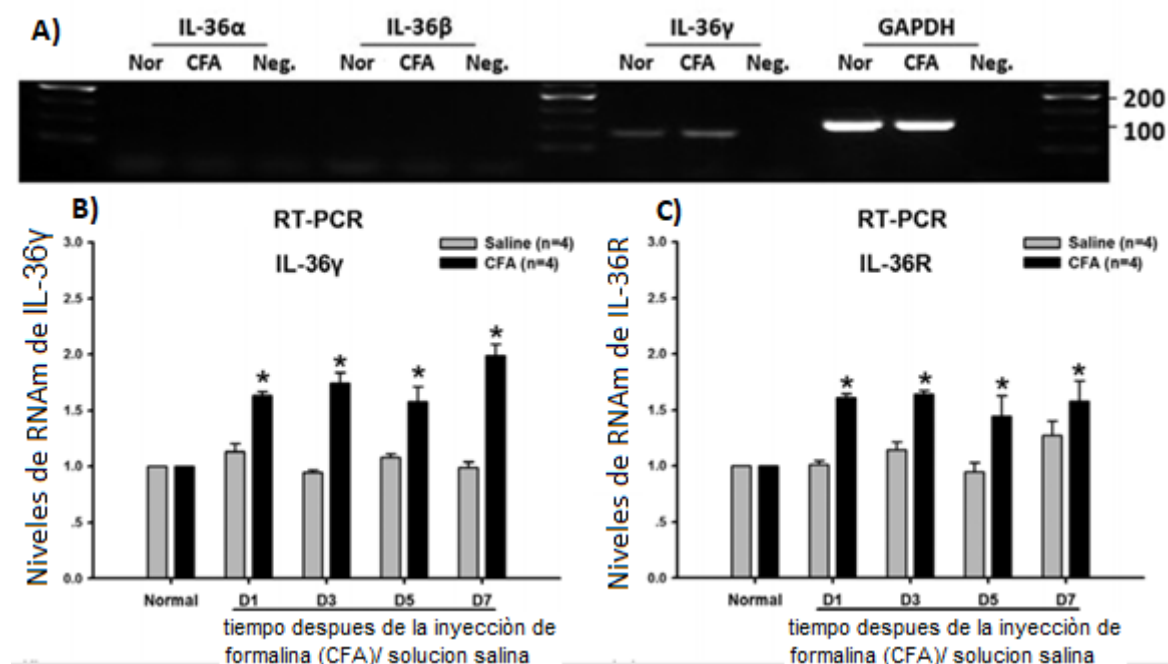
Figura 4. Actividad antiedemática del extracto etanólico de *Aristolochia schippii*. Ratones intoxicados Con una dosis edemática (15  $\mu$ L (100 $\mu$ g/50  $\mu$ L); ratones tratados con F(ab')<sub>2</sub> (4.6 mg/kg), ratones tratados con indometacina (10 mg/kg) vía i.p. y oral), ratones intoxicados (NaHCO<sub>3</sub> al 5%, vehículo) y tratados con el extracto etanólico de *Aristolochia schippii* (600 y 900 mg/kg). Se representa la media  $\pm$  error estándar. Tix (testigo intoxicado), Tix+Fab (intoxicado + faboterápico), Tix+Indomet (intoxicado + indometacina), Tix+Ext 600 mg/kg (intoxicado + Ext. 600 mg/kg) Tix+Ext 900 mg/kg (intoxicado + Ext. 900 mg/kg). \* $P$ <0.05 vs testigo; <sup>a</sup> $P$ <0.05 vs Tix. (ANOVA; post hoc Bonferroni). n=4.

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de *Artemisia ludoviciana* ssp, del Estado de México, se observó que la formalina induce el proceso inflamatorio agudo y que el extracto de la especie vegetal a las dosis de 100 y 200 mg/kg de p.c., redujo la inflamación de forma dosis dependiente.

Para cumplir con la **meta 4**, Se realizó un ensayo clínico aleatorizado (ECA) con 202 participantes mestizos mexicanos, quienes fueron asignados a LSI (efectos del estilo de vida) (n=115) o LSI+MET (metformina)(n=87). Los resultados primarios fueron cambios en la glucosa plasmática en ayunas, HbA1c y resistencia a la insulina medida por HOMA-IR durante un período de 12 semanas. Ambos grupos mostraron mejoras en el control glucémico y los parámetros metabólicos, pero se observaron diferencias significativas en ciertas áreas. El grupo LSI+MET exhibió una reducción significativa en los niveles de insulina en ayunas ( $p=0,049$ ) y HOMA-IR ( $p=0,019$ ) en comparación con el grupo LSI. Aunque ambos grupos experimentaron pérdida de peso, las reducciones en el IMC y el porcentaje de masa grasa no fueron estadísticamente significativas

entre los grupos. No se encontraron diferencias significativas en la glucosa en ayunas, la glucosa posprandial, la HbA1c, los triglicéridos, los niveles de colesterol u otros marcadores metabólicos entre los dos grupos.

Para la **meta 5**, Se logró obtener la técnica de extracción y purificación de microglía de médula espinal, se estandarizó el modelo de dolor agudo con un grupo de 10 ratones C57BL/6 (5 inyectados con formalina y 5 con PBS 1x), observamos que los ratones inyectados con formalina muestran un puntaje significativamente mayor a los 5 minutos y a las 18 horas. Con la finalidad de observar el papel que juega la IL-36 gamma, se midió la expresión de IL-36 $\gamma$  en microglía de médula espinal en dolor agudo, para lo cual se llevó a cabo el qPCR de microglía de médula espinal de 8 ratones de cada grupo sacrificados a las 18 y 24 horas (Grafica 1). Expresión génica de IL-36 $\gamma$  en microglía de médula espinal a las 18 horas. En la figura A, se observa la presencia de RNA de IL-36 $\gamma$  en microglía de médula espinal de ratones no puncionados (blanco), con inyección intraplantar de PBSa las 18 horas (gris claro) y 24 horas (blanco con rayas verticales), con inyección de formalina 10% por 18 horas (gris oscuro) y 24 horas (blanco con rayas diagonales). Se realizo un análisis de correlación de medias con RM ANOVA con  $P > 0.05$ .



Los resultados se presentaron en tres ponencias en congresos institucionales, 4 en nacionales y uno internacional, una conferencia nacional. También forman parte del material de tres tesis de licenciatura de químico farmacéutico Industrial. A nivel de posgrado la obtención del doctorado en Ciencias en Quimicobiológicas de una maestra en ciencias, así como 1 publicación JCR.

#### 4. Conclusiones e impacto de la investigación

Se estableció un modelo de inflamación aguda mediante la administración de formalina al 2.5 % en la aponeurosis subplantar de la pata derecha, 30 minutos después de la inyección de formalina se administraron los diferentes tratamientos *per os*, se midió el grosor de la pata inyectada de cada animal con el vernier digital (Dzoyem y col., 2017; Franco y col., 2007), se determinó el tiempo de 4-5 horas para evaluar el proceso inflamatorio. Esta investigación provee evidencia científica que *Artemisia ludoviciana* ssp, del Estado de México puede seguir siendo utilizada por la comunidad como antiinflamatorio.

Se validaron las especies utilizadas empíricamente por su posible efecto diurético de acuerdo con los estudios etnobotánicos realizados en diferentes comunidades del estado de Oaxaca, estado de Morelos y el Estado de México, se detectaron metabolitos secundarios que pueden estar involucrados en la actividad terapéutica, Por los resultados obtenidos se puede sugerir que el extracto acuoso de *Scutellaria orichalcea* mostró actividad diurética sin modificar la velocidad de filtración glomerular, lo que sugiere un efecto tubular directo (Meléndez y col., 2006a; Meléndez y col., 2006b, Meléndez y col., 2014). Los extractos no son tóxicos, porque la DL<sub>50</sub> es mayor de 8 g/kg de peso corporal (Ecobichon, 1992). *Verbena carolina*, protegió de la formación de cálculos renales que se demostró por la disminución de la excreción urinaria de oxalato de calcio, en la litiasis inducida por el etilenglicol ((Ávila y Meléndez, 2009; Estévez y col., 2012 y 2013; Meléndez-Camargo y col., 2014).

Por otro lado, se observó que la adición de metformina a una intervención en el estilo de vida mejoró significativamente la sensibilidad a la insulina, como lo demuestran las reducciones en los niveles de insulina en ayunas y HOMA-IR. Sin embargo, la metformina no proporciona beneficios adicionales en la pérdida de peso u otros parámetros metabólicos en comparación con la intervención en el estilo de vida sola. Estos hallazgos sugieren que, si bien la metformina puede mejorar la sensibilidad a la insulina, las intervenciones en el estilo de vida siguen siendo esenciales para lograr mejoras integrales en la salud metabólica.

Otro hallazgo interesante es la obtención de la microglía de la médula espinal de ratón y demostrar que la microglía de la médula espinal disminuye la expresión de la IL-36 $\gamma$  Durante las primeras horas del proceso doloroso agudo, pero muestra una tendencia a incrementar posterior a las 24 horas. La IL-36 $\gamma$  se autorregula en la microglía (Gutiérrez-Roman y col., 2023).

El **Impacto** es la contribución del estudio al corroborar que las diferentes especies usadas empíricamente como diuréticas fueran avaladas científicamente, hallazgos que deben difundirse en la comunidad que las usan, además se observó que no son tóxicas, de acuerdo con los estudios realizados, los flavonoides, taninos y alcaloides pueden ser los responsables de esta actividad. Debido a la importancia actual que tiene la herbolaria para tratar diferentes enfermedades, por lo que es necesario demostrar la efectividad y conocer la inocuidad las especies. En la evaluación de la actividad antiinflamatoria las especies indujeron una menor toxicidad en comparación a la indometacina. Así como *Aristolochia schippii* puede ser una alternativa terapéutica para tratar las mordeduras de serpiente como se observó con el veneno de *Bothrops asper*. Otro hallazgo interesante es que el estilo de vida influye más en el tratamiento de la diabetes tipo 2 y por último que se logró obtener la microglía de la médula

espinal de ratón y determinar que la interleucina 36 gama se autorregula en la microglía para el dolor agudo.

## 5. Bibliografía

- Argueta VA, Cano ALM, Rodarte ME. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista, México. P. 832.
- Ávila-Ramírez M. E., **Meléndez-Camargo M. E.** 2009. El glutatión y las vitaminas C y E protegen en el daño renal agudo inducido por cromo en la rata. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 40(1):35-41.
- Badilla B., Arias A. Y., Arias M., Mora G. A. Y Poveda L. J. 2003. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Loasa speciosa* in rats and mice. *Fitoterapia*, 74: 45-51.
- Dalla V. L., Mejia M., García-Argáez A. N., Braga A., Toninello A., Martínez-Vázquez M. 2015. Anti-inflammatory and antiproliferative evaluation of 4 $\beta$ -innamoyloxy, 1 $\beta$ , 3 $\alpha$ -dihydroxyeudesm-7,8-ene from *Verbesina persicifolia* and derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(17): 5816–5828.
- Domínguez X. A. 1978. Métodos de Investigación Fitoquímica. 2ª ed. Limusa, México, D.F. pp. 39-44.
- Dzoyem J. P., McGaw L. J., Kuete V., Bakowsky U. 2017. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of African medicinal spices and vegetables. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*. doi:10.1016/b978-0-12-809286-6.00009-1.
- Ecobichon D. J. 1992. The basic of toxicity testing. 2a ed. CRC Press, London, p. 50.
- Estévez-Carmona M. M., **Meléndez-Camargo E.**, Ortíz-Butron R., Pineda-Reynoso M., Franco-Colín M., Cano-Europa E. 2012. Hypothyroidism maintained reactive oxygen species-steady state in kidney of rats intoxicated with ethylene-glycol: effect related with an increase of the glutathione REDOX environment. *Toxicology and Industrial Health*, 29(6) 555–566.
- Estévez-Carmona M. M., Narváez-Morales J., Barbier O. C., **Meléndez-Camargo M. E.** 2013. Molecular mechanisms involved in the protective effect of the chloroform extract of *Selaginella lepidophylla* (Hook. et Grev.) Spring in a lithiasic rat model. *Urolithiasis*, 41 (3): 205-215.
- Franco L. A., Matiz G. E., Calle J., Pinzón R., Ospina L. F. 2007. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. *Biomedica*. 27 (1): 110 -115
- Gutiérrez-Román CI, **Meléndez Camargo ME**, García Rojas CC, Jimenez Olvera M, Gutiérrez Román SH, Medina-Contreras O. 2023. Rapid and efficient enrichment of mouse spinal cord microglia. *Journal of Visualized Experiments*, 22:(199), e65961, doi:10.3791/65961 (2023).
- Harbison, A.M., Nguyen, J.N.T. (2017). PCR: identification of genetic polymorphisms. *Molecular Profiling: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, vol. 1606, [https://DOI 10.1007/978-1-4939-6990-6\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6990-6_13)
- Koster R., Anderson M., De-Beer E. J. 1959. Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings*, 18:412 – 418.
- ▮ Kumate J. 1993. La medicina herbolaria contemporánea. En: Juan M., Bondani A., Sanfilippo B. J., Berumen E. (eds.), *La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana*. Secretaría de salud, México. Pp. 11-12.

- Kuklinski C. 2000. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen vegetal. 3ª ed. Ediciones Omega, Barcelona. pp.134-200.
- Márquez-Flores Y. K., Campos Aldrete M. E., Salgado-Zamora H., Correa J., **Meléndez-Camargo M. E.** 2012. Docking simulations, synthesis and anti-inflammatory activity evaluation of 2-(N-alkyl)amino-3-nitroimidazo[1,2-a]pyridines. *Medicinal Chemistry Research*, 21 (6):775-782.
- Márquez-Flores Y. K., Campos Aldrete M. E., Salgado-Zamora H., Correa J., **Meléndez-Camargo M. E.** 2012. Acute and chronic anti-inflammatory evaluation of imidazo[1,2-a]pyridine carboxylic acid derivatives and docking analysis. *Medicinal Chemistry Research*, 21:3491-3498.
- Martínez M. 1996. Las plantas medicinales de México. 6ª ed. Ed. Botas. México, D.F. P. 493.
- **Meléndez C. M. E.**, Castillo N. R., Silva T. R., Campos A. M. E. 2006a. Evaluation of the diuretic effect of aqueous extract *Costus pictus* D. Don in rat. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, 49:72-74.
- **Meléndez E.**, Cooley O., Ramírez M. 2006b. Evaluation of diuretic activity of six plants used for the treatment of urinary diseases in Mexico. In: *Recent Progress in Medicinal Plants*. Govil J.N., Singh V.K., Arunachalam C. (eds). Search for natural drugs, Studium Press LLC, USA, vol 13, pp.323-336
- **Meléndez-Camargo M. E.**, Contreras-León I., Silva-Torres R. 2014. Diuretic effect of alkaloids fraction extracted from *Selaginella lepidophylla* (Hook. et Grev.) Spring. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 13 (1): 92 – 99.
- Navarrete Contreras J. E. 2023. La farmacovigilancia como parte fundamental en el monitoreo del uso de los fármacos ansiolíticos. Tesis de licenciatura, Químico Farmacéutico Industrial, ENCB-IPN, México.
- NOM-062-ZOO-1999, 2001. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 1999. Technical Specifications for the production, care and use of laboratory animals. Official Mexican Standard.
- Pablo-Pérez S. S., Estévez-Carmona M. M., **Meléndez-Camargo M. E.** 2016. Diuretic activity of the bark of *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. in the rat. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11(1):212-217.
- Pablo-Pérez S.S., Parada-Cruz B., Olivier Christophe Barbier O.C., **Meléndez-Camargo M.E.** 2018. The ethanolic extract of *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. bark and its fractions delay the progression of rheumatoid arthritis and show antinociceptive activity in murine models. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17(1): 236-248.
- Rzedowski J, y Rzedowski G. 1979. Flora fanerogámica del Valle de México. 1ª ed. Ed. Continental, México D.F. Volumen I, p. 43.
- Salazar R. M. 2007. Estudio Etnobotánico *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. En una Comunidad del Municipio de Zempoala, Hidalgo y Evaluación del Efecto Diurético en Rata. Tesis, Licenciado en Farmacia, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Volák J. y Stodola J. 1997. Plantas medicinales. 6ª ed. Ed. Susaeta ediciones. Madrid, España. P. 6.

