

## Evaluación de la actividad antiepiléptica de extractos de menta en modelos inducidos con pentilentetrazol

### Evaluation of the antiepileptic activity of mint extracts in models induced with pentylenetetrazole

E. López-Durán <sup>a</sup>, E. A. Villeda-Gutiérrez <sup>b</sup>, Y. de las M. Gómez y Gómez <sup>a,b</sup>, M. I. Jiménez-Zúñiga <sup>a,b</sup>, A. J. Hurtado-Mariles 

<sup>a</sup> Universidad Tecnológica de Tecámac, División Químico Biológicas, 55749, Tecámac, Estado de México, México.

<sup>b</sup> Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Departamento de Bioprocesos, Laboratorio de Farmacología, 07340, Ciudad de México, México.

#### Resumen

La epilepsia se define por dos o más convulsiones no provocadas, estas convulsiones son episodios breves de movimientos involuntarios que pueden afectar a una parte del cuerpo o su totalidad, se deben a descargas eléctricas excesivas de células cerebrales (neuronas) que pueden producirse en diferentes partes del cerebro. El presente proyecto evaluó la extracción de metabolitos secundarios de *Mentha piperita* y *Mentha poleo* como agentes protectores contra la epilepsia. Las plantas se sometieron a maceración con agua destilada hasta obtener los extractos, se procedió a analizar por pruebas cualitativas y cuantitativas la presencia de metabolitos secundarios, los extractos se utilizaron para ensayos en modelos *in vivo* con inducción del pentilentetrazol (PTZ); se dividieron en 5 grupos n=5 ratones machos cada uno, se administró PTZ 70 mg/kg (grupo 1), clonazepam 1 mg/kg (grupo 2), carbamazepina 100 mg/kg (grupo3), *Mentha poleo* 200 mg/kg (grupo 4), *Mentha piperita* 200 mg/kg (grupo 5), después de 1 h de administrar los tratamientos se indujeron las convulsiones con PTZ en los grupos 2 al 5 para observar su comportamiento durante 30 min. El extracto de *Mentha piperita* redujo el número de convulsiones y mantuvo el tiempo de sobrevivencia en los ratones, comportándose como el clonazepam cuyo fármaco es utilizado en el tratamiento de la epilepsia.

#### Palabras Clave:

Epilepsia, fenoles, *Mentha piperita*, *Mentha poleo*.

#### Abstract

Epilepsy is defined by two or more unprovoked seizures, these seizures are brief episodes of involuntary movements that can affect a part of the body or the whole, they are due to excessive electrical discharges of brain cells (neurons) that can occur in different parts of the brain. In the present project evaluated the extraction of secondary metabolites of *Mentha piperita* and *Mentha poleo* as protective agents against epilepsy. The plants were subjected to maceration with water until extracts were obtained, the presence of secondary metabolites was analyzed by qualitative and quantitative tests, the extracts were used for *in vivo* models tests with induction of pentylenetetrazole (PTZ); were divided into 5 groups n = 5 male mice each, PTZ 70 mg / kg (group 1), clonazepam 1 mg / kg (group 2), carbamazepine 100 mg / kg (group 3), *Mentha poleo* 200 mg / kg (group 4), *Mentha piperita* 200 mg / kg (group 5), After 1 h of administering the treatments, seizures were induced with PTZ in groups 2 to 5 to observe their behavior for 30 min. *Mentha piperita* extract reduced the number of seizures and maintained survival time in mice, behaving like clonazepam whose drug is used in the treatment of epilepsy.

#### Keywords:

Epilepsy, phenols, *Mentha piperita*, *Mentha poleo*.

### 1. Introducción

De acuerdo con la OMS (2018), la epilepsia se define por dos o más convulsiones no provocadas. Estas convulsiones son episodios breves de movimientos involuntarios que pueden

afectar a una parte del cuerpo (convulsiones parciales) o a su totalidad (convulsiones generalizadas) y a veces se acompañan de pérdida de la consciencia y del control de los esfínteres.

\*Autor para la correspondencia: [alejandroj\\_hm@hotmail.com](mailto:alejandroj_hm@hotmail.com) (Alejandro J. Hurtado-Mariles)

Correo electrónico: [esteban\\_plg@hotmail.com](mailto:esteban_plg@hotmail.com) (Esteban López-Durán), [eavg.uttec@gmail.com](mailto:eavg.uttec@gmail.com) (Erika A. Villeda-Gutiérrez), [ygomez@ipn.mx](mailto:ygomez@ipn.mx) (Yolanda de las Mercedes-Gómez y Gómez), [mjimenez.zuniga@hotmail.com](mailto:mjimenez.zuniga@hotmail.com) (Marcos I. Jiménez-Zúñiga)

Las convulsiones se deben a descargas eléctricas excesivas de grupos de células cerebrales que pueden producirse en diferentes partes del cerebro. Estas convulsiones pueden ir desde episodios muy breves de ausencia o de contracciones musculares hasta convulsiones prolongadas y graves. Su frecuencia también puede variar desde menos de una al año hasta varias al día (OMS, 2018).

Para tratar esta enfermedad, existen varios métodos uno de ellos son los medicamentos, los disponibles en la actualidad, logran controlar los ataques en la mayoría de los pacientes. Estos medicamentos son de uso diario, y el paciente debe seguir las indicaciones médicas al pie de la letra. En algunos pacientes, el fármaco recetado debe tomarse por varios años, en otros, durante toda la vida (Epilepsy Foundation of America, Inc, 2018).

La prescripción adecuada del anticonvulsivo requiere el conocimiento de la farmacocinética del fármaco. Se debe tener en cuenta que, una vez que se haya instituido la terapéutica farmacológica, el anticonvulsivo solo logrará el equilibrio metabólico después de un período de por lo menos cuatro vidas medias, tiempo necesario para obtener la saturación tisular (Maranhao *et al.*, 2011).

Se debe mencionar que no siempre el efecto es el deseado o peor aún se crea una dependencia, por lo cual uno de los tratamientos innovadores es el uso de plantas medicinales, juegan un papel importante en el tratamiento de enfermedades neurológicas tales como la enfermedad de Alzheimer, la isquemia cerebral, la reperfusión y otras enfermedades neurodegenerativas (Rabiei, 2017).

Dentro de las que destacan algunas de la familia de las mentas, por su efecto protector, como lo es la *Mentha piperita* la cual es una planta aromática, perteneciente a la familia de las Lamiáceas, utilizada en el tratamiento de enfermedades respiratorias, estomacales y del hígado, alteraciones cardíacas y la hipertensión; antisépticos y antiespasmódicas (Sánchez *et al.*, 1996). La *Mentha piperita* tiene una gran cantidad de compuestos polifenólicos, los cuales por su intensa actividad antioxidante protegen en contra de enfermedades cardiovasculares y degenerativas (Cruz *et al.*, 2013).

La *Mentha poleo* es ampliamente utilizada como digestivo, colegénico, carminativo, antiséptico pulmonar, refrescante, tónico, aperitivo, estomacal, colerético, expectorante y agente espasmolítico. Además, las hojas y las sumidades floridas se usan contra palpitations, fermentación intestinal, dolor de hígado, mareos, debilidad general, hipo, bronquitis crónica y tos obstinada (Brahmi *et al.*, 2017).

El presente trabajo evaluó el efecto antiepiléptico de los extractos acuosos de *Mentha poleo* y *Mentha piperita* en un modelo de crisis de convulsiones provocado por PTZ en ratones CD-1.

## 2. Metodología

Las plantas *Mentha piperita* y *Mentha poleo* se secaron por 3 días a 40 °C, de las plantas secas se pesaron 10 g de cada una y se pulverizó, posterior a esto se procedió a la maceración adicionando 200 mL de agua destilada, se realizaron 2 procesos de maceración a la misma planta, esto para obtener la mayor cantidad de metabolitos secundarios.

### 2.1. Pruebas cualitativas

Se identificaron los metabolitos secundarios presentes en ambos extractos de las plantas, por medio de un preliminar fitoquímico donde se realizaron pruebas para fenoles, flavonoides, taninos, cumarinas y saponinas (Valencia *et al.*, 2010).

#### 2.1.1. Prueba para Fenoles

Se tomaron 100 µL del extracto y se repartieron en 5 tubos de ensaye; se añadieron 50 µL de agua destilada con la que se logró el color amarillo, los tubos se consideraron de la siguiente forma: el 1° testigo, el 2° se adicionó 1 gota de cloruro férrico, 3° se adicionó 2 gotas de cloruro férrico, 4° se adicionó 3 gotas de cloruro férrico y en el 5° se adicionó 4 gotas de cloruro férrico la prueba se determinó de la siguiente manera:

- Ninguna reacción (no cambia de color) = no hay presencia de fenoles o taninos.
- Cambio de color azul oscuro= fenoles o taninos pirogálicos (hidrosolubles)
- Cambio de color a verde oscuro=fenoles o taninos de tipo catecol (flavonoides o taninos concentrados).

#### 2.1.2. Prueba para Flavonoides

Se disolvió 0.5 mL del extracto en 2 mL de etanol absoluto y se dividió en 3 tubos:

Tubo 1: Testigo.

Tubo 2: Reacción de Shinoda, se agregó 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado (color rojizo presencia de auronas o chalconas). Si hay cambio, colocar 10 pequeños trozos de magnesio metálico (de naranja a rojo presencia de flavonas y si es magenta presencia de flavononas).

Tubo 3: Reacción de hidróxido de sodio 10%, se adicionó 3 gotas de hidróxido de sodio (coloración amarilla a rojo presencia de xantonas y flavonas, café a naranja de flavonoides; de púrpura a rojizo de chalconas y azul de antocianinas).

#### 2.1.3. Prueba para Taninos

A 1 mL de extracto se adicionó 2 mL de agua destilada y 3 gotas de cloruro de sodio al 2%. Se calentó a ebullición por 1 minuto. Se enfrió y se filtró, el filtrado se dividió en 4 tubos:

Tubo 1: testigo.

Tubo 2: reacción con gelatina, se adicionó 2 gotas de reactivo de gelatina (precipitado blanco indica presencia de taninos).

Tubo 3: reacción de cloruro férrico: se adicionó una gota de cloruro férrico al 1% (formación de coloración azul o negro indica presencia de derivados del ácido gálico y verdes de derivados del catecol).

Tubo 4: se agregó 1 gota de ferricianuro de potasio al 1% (coloración azul, presencia de componente fenólicos).

#### 2.1.4. Prueba para Cumarinas

Cápsula de porcelana 1: Reacción de Erlich se colocó 0.5 mL del extracto en la cápsula de porcelana, se concentró y se agregó dos gotas de reactivo de Erlich y 1 gota de ácido clorhídrico (coloración naranja indica presencia de Cumarinas).

Capsula de porcelana 2: Reacción con hidróxido de amonio, se concentró una porción del extracto y se adicionó 0.5 mL de etanol y 2 gotas de hidróxido de amonio concentrado (positiva si hay fluorescencia azul-violeta).

#### 2.1.5. Prueba para Saponinas

Tubo 1: Reacción de Lieberman Bouchard, se concentró 0.5 mL de extracto hasta 0.2 mL, después se agregaron 2 gotas de anhídrido acético y se esterificó con 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. (Color azul o verde en la interfase indica la presencia de saponinas esteroideas, si la coloración es rosa, rojo o magenta o violeta indica la presencia de saponinas triterpenoides).

Tubo 2: Reacción de Rosenthaler, una porción de extracto concentrado, se adicionaron 2 gotas de reactivo de Rosenthaler y se esterificó con 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado (coloración violeta indica la presencia de saponinas triterpenoides). Se recomienda que para la reacción de Rosenthaler esperar hasta 48 horas para tener mejores resultados.

### 2.2. Pruebas cuantitativas

#### 2.2.1. Prueba para Fenoles

Se determinó por el método descrito por (Singleton & Rossi, 1965). Se adicionaron en tubos de ensaye 100 µL de la muestra, 100 µL de agua destilada, 1000 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 1N y 800 µL de carbonato de sodio al 7.5%, los tubos se agitaron en un Vortex y se dejaron reposar por 30 minutos en la oscuridad, después se leyeron a 760 nm en un espectrofotómetro y se interpolaron los valores en la curva tipo de ácido gálico expresándose los resultados en concentración de fenoles totales [mg eq. de ácido gálico/ 1 g de muestra].

#### 2.2.2. Prueba para Flavonoides

Se realizó por el método descrito por (Chang *et al.*, 2002). Se adicionaron en tubos de ensaye 500 µL de la muestra, 1500 µL de etanol 95%, 100 µL de cloruro de aluminio al 10%, 100 µL de acetato de potasio 1M y 2800 µL de agua destilada, los tubos se agitaron en un vortex y se dejaron reposar por 30 minutos, después se leyeron a 415 nm en un espectrofotómetro y se interpolaron los valores en la curva tipo de quercetina expresándose los resultados en concentración de flavonoides totales [µg eq. de quercetina/1 g de muestra].

#### 2.2.3. Prueba para Taninos

Se realizó la cuantificación por el método de Folin-Ciocalteu descrito por (Makkar *et al.*, 1993). Se adicionaron en tubos de ensaye 100 µL de la muestra, 250 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 1N y 1250 µL de carbonato de sodio al 20%, los tubos se agitaron en un vortex y se dejaron reposar por 40 minutos, después se leyeron a 725 nm en un espectrofotómetro y se interpolaron los valores en la curva tipo de ácido tánico expresándose los resultados en concentración de taninos [mg eq. de ácido tánico/ 1 g de muestra].

### 2.3. Modelo de inducción con pentilentetrazol (PTZ)

Se utilizaron ratones machos *Mus musculus* de la cepa CD-1 de 25 a 35 g de peso. Los ratones se dividieron en grupos de n=5 para formar 5 lotes, de los grupos PTZ 70 mg/kg (grupo 1), clonazepam 1 mg/kg (grupo 2), carbamazepina 100 mg/kg

(grupo3), *Mentha poleo* 200 mg/kg (grupo 4), *Mentha piperita* 200 mg/kg (grupo 5), cada grupo con libre acceso al agua y alimento, manteniendo un ciclo de luz/oscuridad invertido de 12 h/12 h a una temperatura de entre 20-22 °C (González, 2011; Ramos-Morales *et al.*, 2012).

### 2.4. Tratamientos

Los extractos se sometieron a secado, eliminando toda la cantidad de agua, una vez realizado esto se pesó la cantidad deseada para llegar a la concentración de 200 mg/kg de peso de ratón para ambas plantas, se disolvieron en solución salina, los fármacos se pesaron para llegar a una concentración de 1 mg/kg de peso de ratón para el clonazepam y 100 mg/kg de peso de ratón para la carbamazepina, todos los fármacos se disolvieron en solución salina (Hurtado-Mariles *et al.*, 2016).

### 2.5. Administración de los extractos y fármacos

La administración de los extractos y fármacos se realizó por vía oral, 1 hora antes de administrar el pentilentetrazol (PTZ). El uso y cuidado de los animales se llevó a cabo siguiendo los lineamientos establecidos en la NOM-062-ZOO-1999 que establece las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

### 2.6. Administración de PTZ

El PTZ se preparó a una concentración de 70 mg/kg, se disolvió en solución salina, posterior a ello se administró a cada lote vía intraperitoneal (i.p.). Una vez administrado el PTZ se videograban las convulsiones del ratón por un periodo de 30 min, basándose en la escala de Racine (tabla 1), para posteriormente analizar los videos (González, 2011).

Tabla 1: Escala de Racine

0= Inmovilidad
1= Asentamiento con la cabeza y estereotipos faciales
2= Ondas convulsivas a través del cuerpo (espasmos)
3= Sacudidas mioclónicas en las extremidades anteriores (postura de canguro).
4= Convulsiones clónicas en todas las extremidades, caída sobre el costado.
5= Convulsiones tónico-clónicas en todas las extremidades, caída sobre la espalda.

González, (2011)

## 3. Resultados y discusión

De acuerdo con la tabla 2, se observan los resultados de las pruebas realizadas para la identificación de los metabolitos secundarios y la cuantificación realizada a ambos extractos.

Tabla 2: Resultados de las pruebas cuantitativas y cualitativas de los extractos.

Nota: (+) indica presencia del metabolito, (-) no hay presencia del metabolito, mg eq. = miligramos equivalentes, N/A no aplicó para realizar la cuantificación de metabolitos secundarios.

Los metabolitos encontrados en ambas plantas de estudio fueron los derivados de flavonoides, taninos y fenoles, los cuales son del interés farmacológico debido a la protección al Sistema Nervioso Central (SNC). El preliminar fitoquímico permitió determinar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de (*Mentha piperita* y *Mentha poleo*). Tal es el caso de los flavonoides que para este caso son de tipo xantonas y flavonas, los flavonoides poseen una amplia gama de actividades farmacológicas, las cuales les confieren capacidad de proteger a las células del estrés oxidativo relacionado con patologías asociadas al envejecimiento, como las enfermedades de Alzheimer y Parkinson (Estrada *et al.*, 2012). Los flavonoides tienen efectos ansiolíticos, sedantes y anticonvulsivos en el SNC (Cardenas-Rodriguez *et al.*, 2014). Se ha demostrado que estos efectos son mediados principalmente por los receptores GABA, en particular los receptores GABA<sub>A</sub>, por lo que los flavonoides han sido reconocidos como una nueva familia de benzodiazepinas, con la ventaja de no presentar los efectos colaterales que éstas producen.

Por otro lado, los polifenoles es un grupo de antioxidantes que contienen una subestructura polifenólica, incluyendo a los polifenoles flavonoides y no flavonoides. Recientemente los polifenoles han aportado evidencia sobre la protección contra el daño que ocasionan los radicales libres en el cuerpo (Diniz *et al.*, 2015), este tipo de metabolito igual se encontró en ambos extractos.

De igual manera al realizar el estudio preliminar fitoquímico se obtuvieron como positivos a los taninos para los extractos de ambas plantas, los cuales son compuestos fenólicos solubles en agua, de los cuales se tiene de tipo ácido gálico y catecol, siendo en un principio los taninos derivados de polifenoles; una vez que los fenoles se hidrolizan se vuelven taninos de tipo ácido gálico y estos a su vez se obtiene el ácido protocatéquico que produce el catecol (Isaza, 2007).

De acuerdo con De la Caridad Sierra-Pérez *et al.*, (2013), la *Mentha piperita* y *poleo*, recientemente se ha informado de sus propiedades analgésicas, anestésicas, sedante-SNC, estimulante, tranquilizante, entre otras. En especial la *M. piperita* tiene efectos sobre el SNC, por otro lado *M. pulegium* usando extractos metanólicos tiene efectos neuroprotectores y neuroquímicos, los que se encuentran en relación con la actividad antioxidante y la inhibición de la monoaminoxidasa-A (MAO-A).

Como se observa en la tabla 2, para ambos extractos se cuantificaron fenoles, flavonoides y taninos; teniendo mayor cantidad de fenoles en comparación con los flavonoides y taninos. Estudios de Garrido *et al.*, (2013), demuestran que los extractos acuosos presentan valores mayores de este metabolito en comparación con etanólicos, cetónico o hexánicos, esto se puede deber a la polaridad del solvente y que los fenoles son más afines al agua. Los compuestos fenólicos poseen una estructura química especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captadores de radicales libres neutralizando peligrosas especies reactivas de oxígeno y algunos iones metálicos quelantes. Los flavonoides, debido a su reactividad, se encuentran en la mayoría de los casos combinadas con un ácido orgánico, un azúcar o bien, con ellos mismos para

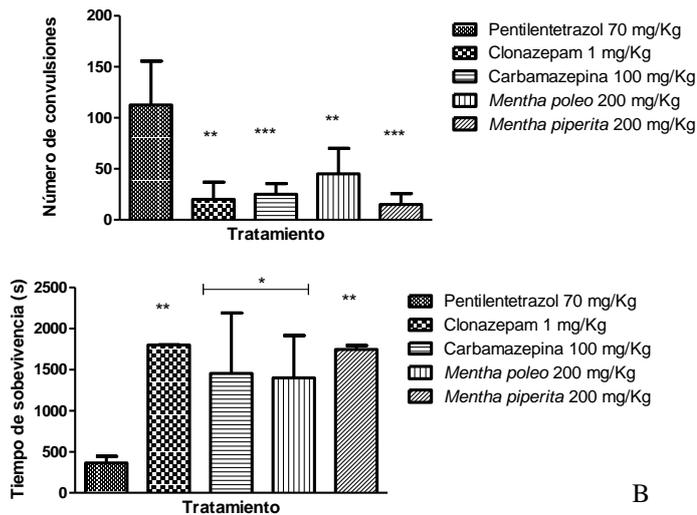
Metabolito	Cuantificación	Extractos	
		<i>Mentha piperita</i>	<i>Mentha poleo</i>
Fenoles	mg eq. de ácido gálico/g de muestra	+	+
		5.192±0.222	5.46±0.006
Flavonoides	mg eq. de quercetina/g de muestra	+	+
		0.487±3.609	0.607±1.44
Taninos	mg eq. de ácido tánico/g de muestra	+	+
		0.337±0.470	0.200±0.47
Cumarinas	N/A	+	+
Saponinas	N/A	+	-

formar un polímero; la rutina es análogo de la quercetina debido a que se le añade a esta un azúcar como la rutinosa.

Para el caso de la cuantificación de los taninos, un estudio realizado por Kasay *et al.*, (2013), mostró que con extractos acuosos tuvo valores mayores que con un extracto etanólico, para nuestro experimento se tuvo la presencia de taninos de tipo ácido gálico y catecol, mismos que se sabe son derivados de fenoles, por lo que se puede decir que las cuantificaciones mostraron solo un tipo de tanino y no los totales, expresando solo mg. De ácido tánico/g de muestra. Al cuantificar el contenido de flavonoides de *Mentha piperita* y *Mentha poleo* en los extractos acuosos, se obtuvo la cantidad de flavonoides que se expresaron en mg eq./g de quercetina, teniendo así que el extracto *Mentha poleo* acuoso reflejo mayor concentración. Existen informes que han descrito posibles mecanismos subyacentes a las acciones neuroprotectoras de los flavonoides, estos tres metabolitos son de interés farmacológico para la protección del SNC por medio de la reducción del estrés oxidativo relacionadas con patologías en el SNC como lo es la epilepsia (Estrada *et al.*, 2012).

#### Modelo de Inducción con pentilentetrazol

Los resultados que se presentan a continuación fueron obtenidos a lo largo de la experimentación *in vivo* en el modelo usando ratones CD-1 induciendo convulsiones con PTZ y demuestran la importancia de los metabolitos encontrados en las plantas medicinales usadas como antiépilépticas mismos que se muestran en la figura 1A y 1B, los cuales corresponden a número de convulsiones y tiempo de supervivencia, de los grupos PTZ 70 mg/kg (grupo 1), clonazepam 1 mg/kg (grupo 2), carbamazepina 100 mg/kg (grupo3), *Mentha poleo* 200 mg/kg (grupo 4), *Mentha piperita* 200 mg/kg (grupo 5).



**Figura: (1A) Número de convulsiones de los extractos de *Mentha piperita* y *Mentha poleo* (1B) tiempo de supervivencia, los valores indican la media  $\pm$  DS con  $n=5$  en cada grupo con una  $p<0.05^*$  en relación con PTZ, ANOVA de una vía DUNNETT.**

Como se puede ver en la figura 1A se observan el número de convulsiones contra los tratamientos usados en la experimentación, como se observa en dicha grafica el extracto que resultó ser más efectivo debido a que redujo el número de convulsiones y por ende protegió más a los ratones, fue la *Mentha piperita*, en comparación con el inductor PTZ y los fármacos. De acuerdo con Cardenas-Rodriguez *et al.*, (2014), la administración de PTZ en dosis única disminuye la función de los sistemas GABA lo cual provoca las convulsiones en el cuerpo. Un factor importante para detonar las convulsiones en el modelo de PTZ es el estrés oxidativo. Este estrés oxidativo se define como el desequilibrio en los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) Cardenas-Rodriguez *et al.*, (2014).

De acuerdo con los resultados los radicales libres juegan un papel importante, por lo que compuestos fenólicos sirven de protección contra enfermedades o patologías relacionadas con el SNC. Otro de los factores de los cuales sirvieron de protección son los flavonoides los cuales se sabe que actúan como anticonvulsivo en ratas tratadas con PTZ, un ejemplo claro de estos flavonoides es la rutina que mejora la recuperación de la memoria en animales normales, de igual manera ayuda a las neuronas piramidales en la región CA3 del hipocampo, estos efectos se deben a que la rutina es un excelente antioxidante. Por otro lado, la rutina y quercetina protegen la membrana celular de la oxidación de lípidos (Nassiri-Asl *et al.*, 2010).

El tiempo de supervivencia es uno de los parámetros que se evalúan al momento de inducir a los ratones con el PTZ, debido a que el tiempo de monitoreo para cada ratón fue de 30 minutos (1800 segundos), durante este tiempo se obtuvo el número de convulsiones y por lo tanto se pudo determinar cuáles fueron los extractos que tuvieron mayor efecto protector y cuales no tuvieron ese efecto. En la figura 1B se aprecian a los extractos que protegieron más a los ratones y por tanto no causaron la muerte de los ratones, dando mejor resultado para la *Mentha piperita*.

Los controles positivos para el estudio de los extractos de *Mentha piperita* y *Mentha poleo* fueron clonazepam y la carbamazepina, estos resultaron ser favorables tras la experimentación, debido a que la tasa de sobrevivencia fue del 80-100%, para la experimentación se utilizó  $n=5$  para cada fármaco respectivamente.

De acuerdo con Koutroumanidou *et al.*, (2013), *Mentha piperita* ha demostrado tener un metabolito que participa en la excitación sinérgica de los receptores de GABA y los canales iónicos de sodio, cuyo resultado ha demostrado tener un efecto analgésico, que puede dar como resultado el sistema de relajación al momento de inducir convulsiones con el PTZ. Se ha demostrado que la mentona tiene efectos anticonvulsivos probados en modelos de PTZ obteniendo convulsiones menores, elevando los niveles de GABA en algunas regiones del cerebro.

De acuerdo con Koutroumanidou *et al.*, (2013), el aceite extraído de *Mentha piperita* tiene un efecto protector en el modelo de inducción de PTZ. De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo el extracto de *Mentha piperita* acuoso presentó menor número de convulsiones y mayor tiempo de supervivencia, protegiendo a los ratones durante el modelo inducido por PTZ. Existe diferencia significativa entre los extractos probados, ya que se comportan de manera similar a los fármacos control (clonazepam y carbamazepina), la similitud mayor se presenta en la *Mentha piperita* y el clonazepam.

El mecanismo por el que actúa el PTZ para inducir las convulsiones aún no ha sido tan estudiado, se sabe que la mayoría de evidencias indican que interaccionan con el sitio de unión a picrotoxina en el receptor GABA<sub>A</sub> bloqueando el canal de Cloro, en el caso de los fármacos como el clonazepam, protegen contra las convulsiones inducidas por PTZ (Ramos-Morales *et al.*, 2012), por lo que la *Mentha piperita* podría actuar de la misma manera.

Las evidencias experimentales demostraron claramente que los flavonoides ejercen actividad antiepiléptica mediante la modulación del complejo de canales de GABA<sub>A</sub>-Cl, ya que son estructuralmente similares a los benzodiazepinas.

#### 4. Conclusiones

De acuerdo con los estudios realizados los extractos de *Mentha piperita* y *Mentha poleo* demostraron tener actividad antiepiléptica en ratones inducidos por pentilentetrazol en comparación con los fármacos más con el clonazepam y su relación con la *Mentha piperita*, esto se debió a los metabolitos secundarios que ayudaron a la protección del estrés oxidativo. Se necesitan realizar estudios *in vitro* para poder revisar como es la interacción y las interacciones de los extractos y los fármacos con el pentilentetrazol.

#### Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado gracias al apoyo del Laboratorio de Farmacología del Departamento de Bioprocesos de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional.

## Referencias

- Brahmi, F., Dahmoune, F., Kadri, N., Chibane, M., Dairi, S., Remini, H., Madani, K., (2017). *Antioxidant capacity and phenolic content of two Algerian Mentha species M. rotundifolia (L.) Huds, M. pulegium L., extracted with different solvents*. Journal of Complementary and Integrative Medicine 14,1-7. DOI: 10.1515/jcim-2016-0064
- Cárdenas-Rodríguez, N., González-Trujano, M. E., Aguirre-Hernández, E., Ruíz-García, M., Sampieri, A., Coballase-Urrutia, E., Carmona-Aparicio, L., (2014). *Anticonvulsant and antioxidant effects of Tilia americana var. mexicana and flavonoids constituents in the pentylene-tetrazole-induced seizures*. Oxidative medicine and cellular longevity 2014. DOI:10.1155/2014/329172 Baker, R. C., (1963b). Título del libro. Nombre de la editorial, Lugar de publicación.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chern, J. C., (2002). *Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods*. Journal of food and drug analysis, 10. DOI:10.38212/2224-6614.2748
- Cruz-Álvarez, O., Martínez-Damián, M. T., Colinas-León, M. T. B., Rodríguez-Pérez, J. E., Ramírez-Ramírez, S. P., (2013). *Cambios de calidad en poscosecha de menta (Mentha x piperita l.) almacenada en refrigeración*. Revista Chapingo. Serie horticultura 19, 287-299. DOI:10.5154/r.rchsh.2012.11.062
- De la Caridad Sierra-Pérez, R., González-Canavaciolo, V. L., Marrero-Delange, D., Rodríguez-Leyes, E. A., (2013). *Lamiaceae: una revisión sobre sus efectos neurofarmacológicos y su presencia en Cuba*. Revista CENIC: Ciencias Biológicas 44.
- Diniz, T. C., Silva, J. C., Lima-Saraiva, S. R. G. D., Ribeiro, F. P. R. D. A., Pacheco, A. G. M., de Freitas, R. M., Almeida, J. R. G. D. S., (2015). *The role of flavonoids on oxidative stress in epilepsy*. Oxidative medicine and cellular longevity 2015. DOI: 10.1155/2015/171756
- Epilepsy Foundation of America, Inc., (2015). *Opciones de Tratamiento para personas que viven con epilepsia y crisis epilépticas*. 11-13. Recuperado de: <https://www.epilepsy.com/sites/core/files/atoms/files/144OPT-S-Treatment%20Options-Spanish%202015.pdf>
- Estrada-Reyes, R., Ubaldo-Suárez, D., Araujo-Escalona, A. G., (2012). *Los flavonoides y el sistema nervioso central*. Salud mental 35, 375-384
- Garrido, G., Ortiz, M., Pozo, P., (2013). *Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de Lampaya medicinalis F. Phil*. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research 1, 30-38.
- González, J. J. J., (2011). *Modulación serotoninérgica de las crisis epilépticas temporales en un modelo de kindling químico* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
- Hurtado Mariles, A. J., (2018). *Producción de extractos de Agastache Mexicana ssp. Mexicana y Agastache Mexicana ssp. xolocotziana y evaluación de la actividad anticonvulsiva*.
- Isaza, J. H., (2007). *Taninos o polifenoles vegetales*. Scientia et technica 1, 13-18. DOI:10.22517/23447214.5817
- Kasay, M. I., Huamán, J., Guerrero, M., (2013). *Estudio cualitativo y cuantitativo de taninos de la Oenothera rosea l'hér. ex aiton*. Revista Peruana de Química e Ingeniería Química 16, 13-19.
- Koutroumanidou, E., Kimbaris, A., Kortsaris, A., Bezirtzoglou, E., Polissiou, M., Charalabopoulos, K., Pagonopoulou, O., (2013). *Increased seizure latency and decreased severity of pentylene-tetrazol-induced seizures in mice after essential oil administration*. Epilepsy research and treatment 2013. DOI: 10.1155/2013/532657
- Makkar, H. P., Blümmel, M., Borowy, N. K., Becker, K., (1993). *Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods*. Journal of the Science of Food and Agriculture 61, 161-165. DOI: 10.1002/jsfa.2740610205
- Maranhão, M. V. M., Gomes, E. A., Carvalho, P. E. D., (2011). *Epilepsia e anestesia*. Revista Brasileira de Anestesiologia 61, 242-254.
- Nassiri-Asl, M., Shariati-Rad, S., Zamansoltani, F., (2008). *Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats*. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry 32, 989-993. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2008.01.011
- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Mexico.
- OMS, O. M. (Octubre de 2018). *Organización Mundial de la Salud OMS*. Obtenido de La epilepsia: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/es/>
- Rabiei, Z., (2017). *Anticonvulsant effects of medicinal plants with emphasis on mechanisms of action*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 7, 166-172. DOI: 10.1016/j.apjtb.2016.11.028
- Ramos-Morales, F. R., Correa-Basurto, J., Saavedra-Vélez, M., Acosta-Hernández, M. E., Gasca-Pérez, E., Pérez-Palacios, A., Trujillo-Ferrara, J., (2012). *Modelo PTZ: un screening primario para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad anticonvulsivante*. Archivos de Neurociencias 17, 45-48.
- Sánchez, E., García, D., Carballo, C., Crespo, M., (1996). *Estudio farmacognóstico de Mentha x piperita L.(toronjil de menta)*. Revista cubana de plantas medicinales 1, 40-45.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A., (1965). *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. American journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158.
- Valencia, G., Garín, M., (1a Ed.), (2010). *Manual de prácticas de productos naturales*. México D.F.