



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

Recibido: 01-12-2022

Revisado: 08-12-2022

Aceptado: 09-01-2023

Publicado: 11-01-2023

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIEPILEPTICA DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE LOS EXTRACTOS CETÓNICOS CRUDOS DE *Mentha piperita* Y *Mentha pulegium*

EVALUATION OF THE ANTIEPILEPTIC ACTIVITY OF SECONDARY METABOLITES OF CRUDE KETONE EXTRACTS OF *Mentha piperita* AND *Mentha pulegium*

M. I. Jiménez-Zuñiga^{1,2}, E. López-Duran¹, Y. Gómez-Gómez³, E. A. Villeda-Guitierrez^{1,2} y A. J. Hurtado-Mariles^{1,3,*}

¹Universidad Tecnológica de Tecámac, División Químico Biológicas, 55740, México.

²Universidad Tecnológica de México, Campus Ecatepec, Facultad de Ciencias de la Salud, 55107, México

³Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Departamento de Bioprocesos, 07340, México.

*Correspondencia: ahurtadom@ipn.mx

Resumen

La epilepsia se define como un trastorno cerebral caracterizado por la ocurrencia periódica e impredecible de convulsiones, originadas por descargas eléctricas excesivas en un grupo de neuronas en diferentes partes del cerebro; pueden ir desde episodios breves de ausencia o de contracciones musculares que provocan convulsiones prolongadas. Su farmacología emplea anticonvulsivos como carbamazepina, ácido valproico, benzodiazepina y gabapentina; cuyo mecanismo es bloquear los canales de Na⁺ y Cl⁻; mejorando la función del sistema GABA. El uso de plantas medicinales en México es común, el desarrollo de tratamientos con bioactivos extraídos de estas, reduce efectos secundarios y en ocasiones mejora el tratamiento. El género *Mentha* presenta efectos relajantes, por lo que se planteó determinar si *Mentha piperita* y *Mentha pulegium* poseen actividad anticonvulsiva empleando un modelo *in vivo*; previamente se realizó un análisis fitoquímico y de actividad antioxidante a partir de los extractos cetónicos crudos que se obtuvieron por sonicación. La prueba *in vivo*, empleó ratones macho *Mus musculus* CD-1, 25-35 g de peso (5 grupos, n=5); con el esquema de administración oral: G1 pentilentetrazol PTZ (70 mg/kg), G2 clonazepam (1 mg/kg); G3 carbamazepina (100 mg/kg); G4 extracto *M. pulegium* (200 m/kg) y G5 extracto *M. piperita* (200 mg/kg); todos *ad libitum* de



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

agua y alimento, ciclos de luz/oscuridad invertido (12/12 h, 20-22 °C). *M. piperita* presentó taninos y *M. pulegium* presentó flavonoides; su porcentaje de inhibición del radical ABTS fue de 90 y 70% respectivamente, y ambas presentaron diferencia significativa en comparación con el clonazepam y la carbamazepina (ANOVA de una vía, $p < 0.05$); concluyendo que ambas, poseen efecto antioxidante y reducen las convulsiones inducidas con PTZ en ratones.

Palabras clave: antioxidantes, epilepsia, menta.

Abstract

Epilepsy is defined as a brain disorder characterized by the periodic and unpredictable occurrence of seizures, caused by excessive electric shocks in a group of neurons in different parts of the brain; they can range from brief episodes of absence or from muscle contractions that cause prolonged seizures. Its pharmacology uses anticonvulsants such as carbamazepine, valproic acid, benzodiazepine and gabapentin, whose mechanism is to block the channels of Na^+ and Cl^- improving the function of the GABA system. The use of medicinal plants in Mexico is common, the development of treatments with bioactives extracted from these ones, it reduces side effects and sometimes improves treatment. The genus *Mentha* has relaxing effects, so it was considered to determine if *Mentha piperita* and *Mentha pulegium* possess anticonvulsant activity using an *in vivo* model; a phytochemical and antioxidant activity analysis was previously performed from the raw ketonic extracts obtained by sonication. The *in vivo* test used male mice *Mus musculus* CD-1, 25-35 g weight (5 groups, $n=5$); with the oral administration scheme: G1 pentylenetetrazole PTZ (70 mg/kg), G2 clonazepam (1 mg/kg); G3 carbamazepine (100 mg/kg); G4 extract *M. pulegium* (200 mg/kg) and G5 extract *M. piperita* (200 mg/kg); all *ad libitum* of water and food, cycles of light/darkness reversed (12/12 h, 20-22 °C). *M. piperita* presented tannins and *M. pulegium* presented flavonoids; its percentage of inhibition of the ABTS radical was 90% and 70% respectively, and both showed significant difference compared to clonazepam and carbamazepine (one-way ANOVA, $p < 0.05$); concluding that both they have antioxidant effect and reduce seizures induced with PTZ in mice.

Keywords: antioxidant, epilepsy, mint.

1. Introducción

La epilepsia es una enfermedad considerada crónica, que se caracteriza por la presencia de convulsiones no provocadas en el cuerpo. La Liga Internacional Contra la Epilepsia por sus siglas en inglés (ILAE) definió a la epilepsia como una enfermedad basada bajo las siguientes condiciones: la presencia de mínimo dos convulsiones no provocadas o provocada que llegan a ocurrir en un tiempo de 24 horas, la probabilidad de que ocurran nuevas convulsiones similares en un lapso de diez años posteriores a la

primera convulsión, y el diagnóstico del síndrome de epilepsia [1]. Las convulsiones se pueden originar debido a descargas eléctricas excesivas de un grupo de células cerebrales que pueden producirse en diferentes partes del cerebro, estas pueden ir desde episodios breves de ausencia o de contracciones musculares hasta provocar convulsiones prolongadas y graves [1].

De acuerdo con la organización mundial de la salud (OMS); define a la epilepsia como un trastorno que padecen alrededor de 50 millones



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

de personas en todo el mundo [2]. Las convulsiones; síntoma principal de esta, son episodios breves de movimientos involuntarios que pueden afectar a una parte del cuerpo (convulsiones parciales) o en su totalidad (convulsiones generalizadas) y que pueden ir acompañadas de la pérdida de consciencia y el control de los esfínteres. Dado al conjunto de aspectos que se consideran para su clasificación, algunos ajustes del Informe de la Comisión de Clasificación y Terminología de la ILAE, 2005-2009. La clasificación de las convulsiones adquiere relevancia para el proceso de diagnóstico y tratamiento.

La epilepsia se controla mediante fármacos alópatas, en específico los anticonvulsivos, de los cuales existen para cada etapa de la epilepsia. El tratamiento con anticonvulsivos inicia generalmente con carbamazepina, ácido valproico, valproato semisódico, fenitoína, fenobarbital y algunos fármacos de reciente uso, gabapentina, oxacarbazepina, lamotrigina y topiramato. El mecanismo de acción de los fármacos antiepilépticos puede llegar a bloquear los canales de sodio y de esta forma mejorar la función del sistema GABA. Junto con los canales de sodio dependientes del voltaje y los componentes del sistema GABA, se incluye también los receptores GABA_A, el transportador 1 GABA y la transaminasa GABA [3].

En la actualidad se han utilizado plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades neurológicas como el Alzheimer, isquemia cerebral, depresión, ansiedad, epilepsia y otras enfermedades degenerativas. El interés por la medicina tradicional ha dado resultado al desarrollo de nuevos tratamientos usando extractos de plantas, aceites esenciales y componentes bioactivos que permitan controlar estas enfermedades, se ha estudiado el mecanismo de acción, los métodos y las dosis en las que puede tener un efecto terapéutico, sobre todo el uso de plantas medicinales reportadas con propiedades anticonvulsivas [3].

De acuerdo con Cruz-Álvarez *et al.* [4], *Mentha piperita* es una planta que tiene propiedades farmacológicas en el tratamiento de enfermedades respiratorias, estomacales y de hígado. Por otro lado, se ha ocupado el aceite de esta planta con propiedades antisépticas, antiespasmódicas y los compuestos fenólicos que aportan una actividad antioxidante puede ayudar a proteger de enfermedades cardiovasculares, degenerativas y neurológicas. La *Mentha pulegium* es una planta de la especie de las *Menthas* que tiene propiedades farmacológicas como de uso digestivo, antiséptico, estomacal y espasmolítico. Las hojas de esta planta se han utilizado principalmente para calmar dolores de hígado, mareos y bronquitis, también se ha utilizado en enfermedades relacionadas con el sistema nervioso central en específico como anticonvulsivo [5].

Los metabolitos secundarios cuantificados y la actividad antioxidante presentes en los extractos cetónicos de *Mentha piperita* y *Mentha pulegium* tienen actividad anticonvulsiva, la cual se evaluó en el siguiente trabajo a través de un modelo *in vivo* inducido con pentilentetrazol (PTZ).

2. Materiales y métodos

2.1. Material biológico

Las plantas de *Mentha pulegium* y *Mentha piperita* se adquirieron en el Mercado de Sonora de plantas medicinales en la Ciudad de México. Se seleccionaron las hojas y tallos tomando en cuenta que no se encontraran dañadas y libres de algún contaminante, así como de daños físicos y/o químicos. Las hojas y tallos se secaron en un horno convencional durante 3 días a 40 °C, [6] debido a que los alimentos de origen vegetal son reconocidos por su notable contenido en compuestos bioactivos (metabolitos secundarios), por lo que la temperatura para su proceso de obtención y secado oscila entre los 40-65 °C [6], posteriormente fueron trituradas para comenzar el proceso de extracción de metabolitos secundarios por un proceso sólido-líquido.



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

2.2. Extracción de metabolitos secundarios

Para el proceso de extracción se utilizaron 10 g de la planta triturada, se colocaron en un envase de vidrio con 200 mL de acetona, el proceso de extracción se realizó por medio de un sonicador a 50 KHz de frecuencia durante 15 min, se realizaron 2 lavados con 200 mL de acetona para arrastrar la mayor cantidad de metabolitos secundarios. Posteriormente se colocó en un rotavapor para concentrar el extracto crudo a 60 °C [6], los extractos fueron filtrados y se guardaron en frascos de vidrio hasta su uso para las pruebas cualitativas, cuantitativas y la actividad *in vivo*.

2.3. Pruebas cualitativas (determinación fitoquímica)

Las pruebas cualitativas se determinaron de acuerdo con Jiménez Zúñiga *et al* [7].

2.3.1. Determinación de fenoles

Para la determinación de fenoles se colocaron 100 μ L del extracto y se colocaron en 5 tubos de ensaye; se añadieron 50 μ L de agua destilada con la que se logró el color amarillo en el extracto, los tubos se consideraron de la siguiente forma: el 1° tubo fue testigo, el 2° tubo se adicionó 1 gota de cloruro férrico, 3° tubo se adicionó 2 gotas de cloruro férrico, 4° tubo se adicionó 3 gotas de cloruro férrico y en el 5° tubo 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) Jiménez Zúñiga *et al* [7].

2.3.2. Determinación de flavonoides

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

El tubo 1 fue el testigo. El tubo 2 fue para la Reacción de Shinoda, se agregaron 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado (la presencia de color rojizo presencia de auronas o chalconas). Si hay cambio de coloración, colocar 10 pequeños

trozos de magnesio metálico (cambiara de color de naranja a rojo presencia de flavonas y si es magenta presencia de flavononas). El tubo 3 fue para la Reacción de hidróxido de sodio al 10%, se adicionaron 3 gotas de hidróxido de sodio (la presencia de coloración amarilla a rojo indica la presencia de xantonas y flavonas, café a naranja de flavonoides; de púrpura a rojizo de chalconas y azul de antocianinas) Jiménez Zúñiga *et al* [7].

2.3.3. Determinación de 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 durante 1 minuto, el extracto se enfrió y se filtró, el líquido filtrado se dividió en 4 tubos: El tubo 1 fue el testigo. El tubo 2 fue para la reacción con gelatina, se adicionó 2 gotas de reactivo de gelatina (si hay presencia de un precipitado blanco indica presencia de taninos). El tubo 3 fue para la reacción de cloruro férrico, se adicionó una gota de cloruro férrico al 1% (si hay la presencia o formación de coloración azul o negro indica presencia de derivados del ácido gálico y verdes de derivados del catecol). El tubo 4 se agregó 1 gota de ferrocianuro de potasio al 1% (si hay presencia de coloración azul, presencia de componente fenólicos) Jiménez Zúñiga *et al* [7].

2.4. Pruebas cuantitativas (cuantificación de metabolitos secundarios)

2.4.1. Cuantificación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles totales se realizó de acuerdo con el método descrito por Singleton & Rossi [8]. En tubos de ensaye se adicionaron 100 μ L de la muestra, 100 μ L de agua destilada, 1000 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu 1N y 800 μ L de carbonato de sodio al 7.5%, los tubos se agitaron en un Vortex y se dejaron reposar durante 30 minutos en la oscuridad, después se leyeron a 760 nm en un espectrofotómetro y se interpolan 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].



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

2.4.2. Cuantificación de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides totales se realizó por el método descrito por Chang *et al.*, [9]. En tubos de ensaye se adicionaron 500 μL de la muestra, 1500 μL de etanol 96 %, 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 durante 30 minutos, después se leyeron a 415 nm en un espectrofotómetro y se interpolan los valores en la curva tipo de quercetina expresándose los resultados en concentración de flavonoides totales [μg eq. de quercetina/1 g de muestra].

2.4.3. Cuantificación de taninos totales

La cuantificación de taninos totales se realizó por el método de Folin-Ciocalteu descrito por Makkar *et al.*, [10]. En tubos de ensaye se adicionaron 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 durante 40 minutos, después se leyeron a 725 nm en un espectrofotómetro y se interpolan 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].

2.4.4. Cuantificación de la capacidad antioxidante por el método 2,2-Azinobis-3-Etilbenzotiazolin-6-Ácido Sulfónico

La cuantificación de la capacidad antioxidante se realizó por el método de 2,2-Azinobis-3-Etilbenzotiazolin-6-Ácido Sulfónico ABTS descrita por Re *et al.*, [11]. El radical ABTS se preparó tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2.45 mM) fueron incubados a temperatura ambiente (± 25 °C) y en oscuridad durante 16 horas. Una vez formado el radical ABTS se tomó 1 mL y se diluyó con etanol al 96 % hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0.70 (± 0.01) a 734 nm en un espectrofotómetro. Todo el proceso ocurrió en total oscuridad.

Para la curva tipo, cada tubo se agitó con un vortex, se leyó a una absorbancia de 734 nm en

un espectrofotómetro, el blanco fue etanol. Se adicionaron en tubos de ensaye 40 μL de los extractos y 1960 μL del radical ABTS, los tubos se agitaron en un vortex y se leyeron a 734 nm en un espectrofotómetro, se interpolan los valores en la curva tipo de trolox expresando los resultados como % de inhibición.

2.5. Inducción de convulsiones modelo con pentilentetrazol

Para la prueba *in vivo* inducción de convulsiones con el pentilentetrazol (PTZ) se utilizaron ratones macho *Mus musculus* de la cepa CD-1 de 29 ± 5.4 g de peso. Los ratones se dividieron en grupos de $n=5$ para formar 5 lotes, el primer grupo se formó con clonazepam 1 mg/kg [12], el segundo grupo con carbamazepina 100 mg/kg [13], el tercer grupo fue el extracto cetónico de *Mentha pulegium* 200 mg/kg, el cuarto grupo fue de *Mentha piperita* 200 mg/kg, dicha dosis se determinó a través de la dosis letal 50, demostrando que no hay muerte superando el gramo administrado y el quinto grupo se administró con solución salina, cada grupo con libre acceso al agua y alimento, manteniendo un ciclo de luz/oscuridad invertida de 12 h/12 h a una temperatura de entre 20-22 °C [14].

2.6. Tratamientos

Los extractos fueron secados a 45 °C durante 5 días hasta eliminar la mayor cantidad de acetona y agua, una vez realizado este proceso se pesó la cantidad para llegar a la concentración de 200 mg/kg de peso de ratón para ambos extractos, posteriormente 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 [15].

El PTZ se preparó a una concentración de 70 mg/kg y se disolvió en solución salina, posterior a ello se administró a cada lote vía intraperitoneal (i.p.). Una vez administrado el PTZ se comenzó a observar las convulsiones de cada ratón por un periodo de 30 min, los resultados se interpretan basándose en la escala de Racine.



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

La administración de los extractos y fármacos se realizó por vía oral, 1 hora antes de administrar el PTZ. El uso y cuidado de los animales se llevó a cabo siguiendo los lineamientos establecidos en la NOM-062-ZOO-1999 [16] que establece las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

2.7. Análisis de datos

Se utilizó el programa Prism-GraphPad versión 5.0 para analizar los resultados de los experimentos presentados mediante un análisis de varianza ANOVA de una vía tomando en

cuenta la desviación estándar y realizando una prueba de DUNNETT, la diferencia significativa de los tratamientos con respecto al control ($p < 0.05$) está indicado encima de las barras en la gráfica.

3. Resultados y discusión

3.1. Pruebas cualitativas (determinación fitoquímica)

El extracto cetónico presentó los siguientes metabolitos secundarios después de haber realizado el tamiz fitoquímico, la presencia de metabolitos secundarios se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Tamiz fitoquímico e identificación de los metabolitos secundarios encontrados en los extractos.

Metabolito secundario	Reacción	Extracto	
		<i>Mentha piperita</i>	<i>Mentha pulegium</i>
Flavonoides	Reacción de Shinoda	ND	+
	Reacción de NaOH 10%	ND	+
Taninos	Reacción con gelatina	+	+
	Reacción de cloruro férrico	+	-

Nota: la siguiente simbología hace denotación a la presencia de los metabolitos secundarios (+) presencia, (+/-) poca presencia, (-) no hay presencia, ND no se detectó.

3.2. Pruebas cuantitativas (cuantificación de metabolitos secundarios)

Los extractos cetónicos de *Mentha piperita* y *Mentha pulegium* presentaron concentraciones que van de 0.166 mg equivalentes de ácido tánico, hasta 0.556 mg equivalente de quercetina, esto por mencionar a los metabolitos secundarios de *Mentha pulegium*, esta técnica se determinó por medio de un espectrofotómetro e interpolando los datos en la curva tipo para localizar la concentración de flavonoides y taninos como se observa en la tabla 2.

3.4. Cuantificación de la capacidad antioxidante por el método ABTS

El extracto cetónico de *Mentha piperita* presentó mayor porcentaje de inhibición del radical ABTS, esto se debe a que los metabolitos secundarios de la *Mentha piperita* pudo atrapar mayor cantidad de radicales libres, dando una neuroprotección, presentando un valor superior al 90%, mientras que el extracto cetónico de *Mentha pulegium* presentó una inhibición alrededor del 70%. Los miligramos equivalentes de trolox calculados de los extractos se muestran en la tabla 3.



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

Tabla 2. Resultados de la cuantificación de flavonoides y taninos.

Metabolito secundario	Reacción	Extracto	
		<i>Mentha piperita</i>	<i>Mentha pulegium</i>
Flavonoides	$C_{\text{FLAVONOIDES}}$ mg eq. de quercetina/g de muestra*	0.000	0.556±0.001
	C_{TANINOS} mg eq. de ácido tánico/g de muestra*	0.377±0.0005	0.166±0.0003

*Los valores indican la media ± DS de una n=2 por triplicado en cada muestra.

Tabla 3. Resultados de la cuantificación de la actividad antioxidante por el método ABTS.

Extracto	% inhibición	Actividad antioxidante (μmol ET/mg ext)
<i>Mentha piperita</i>	95.676±0.082	0.046±0.000045
<i>Mentha pulegium</i>	71.781±0.285	0.033±0.00015

*Los valores indican la media ± DS de una n=2 por triplicado en cada grupo, los valores presentados en esta tabla fueron medidos al instante de preparar la reacción.

3.5. Inducción de convulsiones modelo con pentilentetrazol (PTZ)

En relación con el análisis de la actividad anticonvulsiva de los extractos, se observó que los extractos de *Mentha piperita* y *Mentha pulegium* no presentaron diferencia significativa en comparación con el clonazepam y la carbamazepina, por lo que tienen el mismo comportamiento en la reducción de las convulsiones en los ratones. Contrario a lo que se observa si hay diferencia significativa con el PTZ, por lo que los extractos disminuyeron en número de convulsiones en los ratones, como se observa en la figura 1 y 2, resaltando que la comparación se realizó con control negativo (el pentilentetrazol) mostrando así un asterisco donde existe una diferencia significativa, al analizar cada uno de los datos de todos los tratamientos, en el caso de la figura 1 se muestra que todos tuvieron una diferencia significativa en comparación con el PTZ, esto da un indicio de que tuvo la neuroprotección adecuada tras la inducción de las convulsiones.

La presente investigación muestra que los extractos cetónicos de *Mentha piperita* y *Mentha pulegium* poseen flavonoides y taninos, así como la cuantificación de ambos metabolitos secundarios. De acuerdo con Shakeel *et al.*, [17] determinaron que el aceite esencial de *M. pulegium* y *M. piperita* contienen componentes como mentol, pulegona, mentona y mentol. Por otro lado, McKay & Blumberg [18], determinaron que los aceites esenciales de *M. piperita* pueden contener flavonoides, fenoles y algunos componentes bioactivos. De acuerdo con estudios realizados para *M. piperita*, esta cuenta con flavanonas dentro de las que se incluyen a la hesperidina y naringenina, misma que puede suprimir el inicio y duración de las convulsiones provocadas en modelos *in vivo*, además de que naringenina puede utilizarse como tratamiento restaurando el estado antioxidante del cuerpo que se observó en ratones epilépticos, específicamente en la zona del hipocampo [19], lo que nos indica que los flavonoides, fenoles tienen capacidad de proteger contra la epilepsia con la ayuda de metabolitos secundarios presentes en esta familia de planta.



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

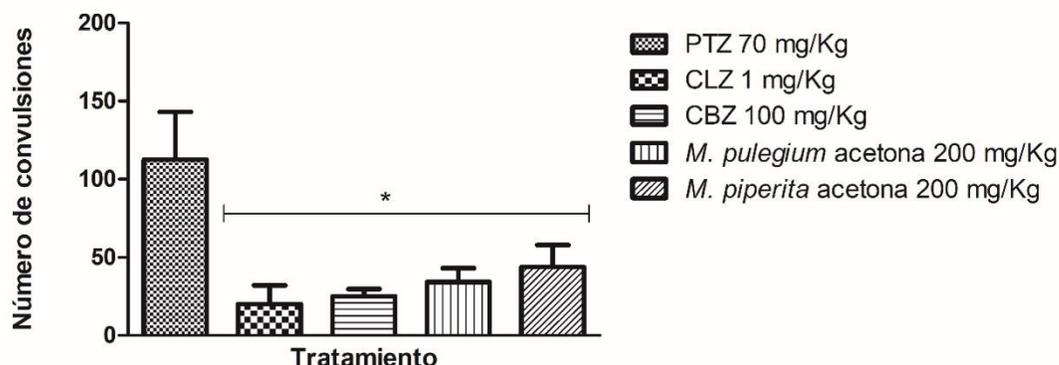


Figura 1. Número de convulsiones de los extractos cetónicos de *Mentha piperita* y *Mentha pulegium* a dosis de 200 mg/kg, clonazepam 1 mg/kg, carbamazepina 100 mg/kg y pentilentetrazol a 70 mg/kg, los valores indican la media \pm DS con n=5 en cada grupo con una $p < 0.05^*$ en comparación con PTZ, ANOVA de una vía DUNNETT.

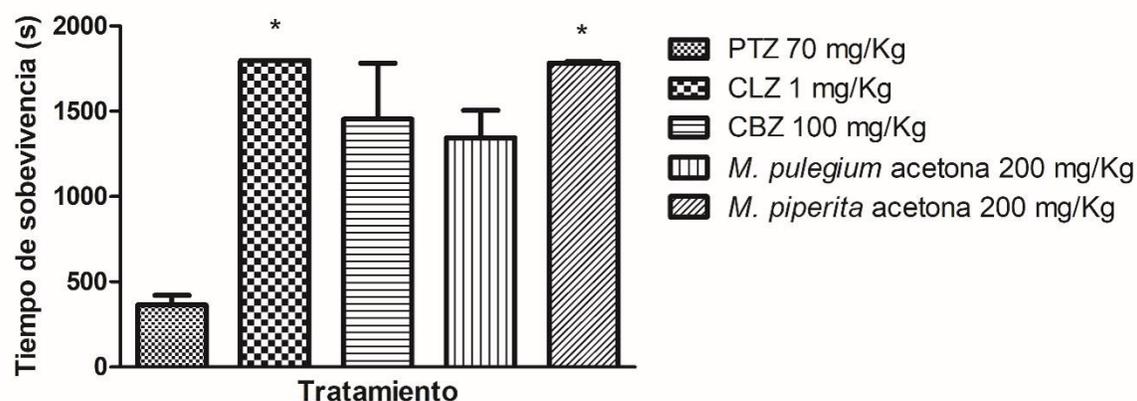


Figura 2. Tiempo de supervivencia de los extractos cetónicos de *Mentha piperita* y *Mentha pulegium* a dosis de 200 mg/kg, clonazepam 1 mg/kg, carbamazepina 100 mg/kg y pentilentetrazol a 70 mg/kg, los valores indican la media \pm DS con una n=5 en cada grupo con una $p < 0.05^*$ en comparación con PTZ, ANOVA de una vía DUNNETT.

En el estudio realizado por McKay & Blumberg [20], el contenido de polifenoles totales en las hojas de *M. piperita* es de entre 19-23 % aproximadamente, de los cuales el 12% corresponde a flavonoides, del 59-67% eriotrina y ácido rosmarínico, del 6-10% hesperidina y en cantidades pequeñas apigenina, pebrellina y

gardenina B. en los resultados obtenidos de la cuantificación de flavonoides el extracto de *M. pulegium* presentó 0.556 ± 0.001 , esta cuantificación se realizó comparando la cantidad obtenida por equivalentes de quercetina por cada gramo de muestra.



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

Los resultados de la actividad antioxidante por el radical ABTS demostraron que el porcentaje fue de 95.67 y 71.78 % para el extracto de *M. piperita* y *M. pulegium* respectivamente. De acuerdo con estudios realizados por Kumar & Mishra [21], se ha reportado que los extractos de *Menta piperita* han presentado un 50% de actividad antioxidante determinado por el método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), cuantificando una concentración inhibitoria máxima (IC₅₀) de 2.53 ug/mL, donde inhibieron la generación de radicales OH hasta del 24%. Los ensayos de DPPH y ABTS son métodos espectrofotométricos y ensayos de transferencia de electrones, generalmente este tipo de ensayos se realizan para muestras que contengan fenoles y flavonoides para determinar la capacidad antioxidante de las muestras en alimentos o muestras biológicas.

Kumar & Mishra [21], ha reportado que la hesperidina es un flavonoide que cuenta con actividad antioxidante y propiedades neuroprotectoras, antiinflamatorias y analgésicas, antibacterianas, antifúngicas y antivirales. Se ha informado que algunos flavonoides naturales poseen una afinidad selectiva al sitio de unión central de las benzodiazepinas en los receptores GABA_A, los derivados de flavonas que son sintetizados con grupos electronegativos tienen una afinidad por el sitio de unión de las benzodiazepinas. Los resultados obtenidos de la actividad anticonvulsiva de los extractos cetónicos de *M. piperita* y *pulegium* mostraron una reducción en el tiempo de supervivencia en la prueba de inducción de convulsiones con PTZ, se observa que no existe diferencia significativa entre los extractos y los fármacos probados, por lo contrario existe diferencia significativa en el tiempo de convulsiones con el tratamiento con PTZ, donde se puede observar que los extractos reducen el tiempo y aumentan el tiempo de sobrevivencia de los ratones expuestos a PTZ. En el tiempo de sobrevivencia se observa que los animales tratados con PTZ no muestran diferencia significativa respecto al resto de los tratamientos probados, por lo contrario, los extractos muestran diferencia significativa con los

fármacos anticonvulsivos probados en dicho estudio.

De acuerdo con Shakeel *et al.*, [19], el aceite esencial de *M. piperita* mejoró los resultados sin ningún tipo de convulsión, ya que el porcentaje de supervivencia fue del 100 %, este grupo experimental no presentó ninguna convulsión después de la administración de PTZ. Por otro lado, el aceite esencial de *M. pulegium* arrojó un 86 % de supervivencia con un tiempo de latencia de 119±20 segundos de latencia en el tiempo de las convulsiones provocadas por el PTZ. De acuerdo con los resultados obtenidos el extracto de *M. piperita* presentó el 100 % de supervivencia con un tiempo de latencia de 1781.8±20 segundos, mientras que el extracto de *M. pulegium* presentó un 100 % de supervivencia con un tiempo de latencia de 1343.52±362.44 segundos.

4. Conclusión

Los extractos cetónicos de *M. piperita* y *M. pulegium* con una dosis de 200 mg/kg redujeron el número de convulsiones y mantuvieron el porcentaje de supervivencia en comparación con el pentilentetrazol, comportándose con el mismo efecto que los fármacos clonazepam y carbamazepina probados en el modelo de convulsiones con pentilentetrazol. Los flavonoides y antioxidantes podrían ser los metabolitos secundarios responsables de la actividad anticonvulsiva y neuroprotectora al momento de inducir las convulsiones

5. Agradecimientos

Al laboratorio de Farmacología del Departamento de Bioprocesos de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional, por las facilidades prestadas para realizar los experimentos.

6. Referencias

[1] Beghi, E., Giussani, G., Sander, J. W. The natural history and prognosis of epilepsy. *Epileptic Disorders*. 2015; 17(3): 243-253



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

[2] Organización Mundial de la salud [Internet]. [consultado 01 ene 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>

[3] Rabiei, Z. Anticonvulsant effects of medicinal plants with emphasis on mechanisms of action. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2017; 7(2): 166-172

[4] Cruz-Álvarez, O., Martínez-Damián, M. T., Colinas-León, M. T. B., Rodríguez-Pérez, J. E., Ramírez-Ramírez, S. P. Cambios de calidad en poscosecha de menta (*Mentha x piperita* L.) almacenada en refrigeración. *Rev. Chapingo Ser Hortic.* 2013; 19(3): 287-299.

[5] Brahmi, F., Dahmoune, F., Kadri, N., Chibane, M., Dairi, S., Remini, H., Madani, K. Antioxidant capacity and phenolic content of two Algerian *Mentha* species *M. rotundifolia* (L.) Huds, *M. pulegium* L., extracted with different solvents. *J Complement. Integr. Med.* 2017; 14(4).

[6] Reis, F. R., de Moraes, A. C. S., Masson, M. L. Impact of foam-mat drying on plant-based foods bioactive compounds: A review. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2021; 76(2), 153-160.

[7] Jiménez Zúñiga MI, Hurtado Mariles AJ, Castrejón Flores JL, Mondragón Herrera JA, Ramírez Sotelo MG, Cerón Montes GI, Gómez y Gómez YM. Antidepressant-Like Effects of *Dracocephalum moldavica* L. in Mouse Models of Immobility Tests. *Pharmacog J.* 2019; 11(5): 976-83.

[8] Singleton, V. L., Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* 1965; 16(3): 144-158.

[9] Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chern, J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.* 2002; 10(3), 178-182.

[10] Makkar, H. P., Blümmel, M., Borowy, N. K., Becker, K. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agric.* 1993; 61(2): 161-165.

[11] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 1999; 26(9): 1231-1237.

[12] Pérez de Alejo, J. L., Rodríguez Rodríguez, G., Miranda Flores, R. Actividad Anticonvulsante de las Fracciones Butanólica y acetato de etilo de la (*Indigofera suffruticosa* Mill (añil cimarrón)). *Plant Med.* 1998; 3(3), 7-11.

[13] Sridhar, S. K., Pandeya, S. N., Stables, J. P., Ramesh, A. (2002). Anticonvulsant activity of hydrazones, Schiff and Mannich bases of isatin derivatives. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2002; 16, 129-132.

[14] Ramos-Morales, F. R., Correa-Basurto, J., Saavedra-Vélez, M., Acosta-Hernández, M. E., Gasca-Pérez, E., Pérez-Palacios, A., Trujillo-Ferrara, J. Modelo PTZ: un screening primario para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad anticonvulsivante. *Arch. Neurocienc.* 2012; 17: 45-48.

[15] López-Duran, E., Villeda-Gutiérrez, E. A., Gómez y Gómez, Y. de las M., Jiménez-Zúñiga, M. I., & Hurtado-Mariles, A. J. Evaluación de la actividad antiepiléptica de extractos de menta en modelos inducidos con pentilentetrazol. *Pädi bol. Cient. De cienc basic e ing Del ICBI.* 2020; 8(Especial): 109-114.

[16] Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 [en línea]. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación. 22 ago 2001. [consulta: 01 ene 2022]. Disponible en: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=764738&fecha=18/06/2001#gsc.tab=0



Artículo de investigación

Jiménez-Zuñiga et al., 2022

[17] Koutroumanidou, E., Kimbaris, A., Kortsaris, A., Bezirtzoglou, E., Polissiou, M., Charalabopoulos, K., Pagonopoulou, O. Increased seizure latency and decreased severity of pentylenetetrazol-induced seizures in mice after essential oil administration. *Epilepsy Res. Treat.* 2013.

[18] Mahendran, G., Rahman, L. U. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha piperita* L.)—A review. *Phytother. Res.* 2020; 34(9): 2088-2139.

[19] Shakeel, S., Rehman, M. U., Tabassum, N., Amin, U. Effect of naringenin (a naturally occurring flavanone) against pilocarpine-induced status epilepticus and oxidative stress in mice. *Pharmacogn. Mag.* 2017; 13(Suppl 1): S154.

[20] McKay, D. L., Blumberg, J. B. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytother. Res.* 2006; 20(8): 619-633.

[21] Kumar, A., Lalitha, S., Mishra, J. Hesperidin potentiates the neuroprotective effects of diazepam and gabapentin against pentylenetetrazole-induced convulsions in mice: Possible behavioral, biochemical and mitochondrial alterations. *Indian J. Pharmacol.* 2014; 46(3): 309.