

Mtra. María Elena Contreras Garfias
 Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
 PRESENTE



Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes:

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
	21	1	2019		21	7	2019

Datos del Alumno

Nombre : Cecilia Cervantes Robles	
Matrícula : 2153026372	Licenciatura : Química Farmacéutica Biológica
Domicilio : Jacarandas lote 1 manzana 15, Ampliación Minas Palacio, Naucalpan de Juárez CCP 53696	
Teléfono : 5553026217	Celular : 5574974520
Correo Electrónico : ceci_cervantes2@hotmail.com	CURP : CERC970212MMCRBC09

Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto : Estudio de las propiedades antimicrobianas de la myxus verucinata jacq en modelos murinos			
Lugar donde se realizó el Servicio Social : Laboratorio de Química Organica y Productos Naturales Depto Sistemas Biológicos			
Dependencia : Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco			
Entidad Federativa : Distrito Federal			
Municipio : Coyoacán	Localidad :		
Fecha de Inicio	Día Mes Año	Fecha de Término	Día Mes Año
	26 1 2019		13 6 2021

PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

Sector: 1.- Educativo	Tipo: 2.- Interno
Orientación: 8.- Salud, Alimentación Y Nutrición	

FIRMAS

Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez 17767

Asesor Interno
 Nombre, firma y No. Económico

Asesor Externo
 Nombre, firma y No. Económico

Cecilia Cervantes Robles

Alumno
 Nombre, firma

Vo. Bo. de la Comisión
 Nombre y firma de la persona que autoriza
 Dra. María Angélica Gutiérrez Nava



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Ciudad de México 17 de agosto de 2021

ASUNTO: CARTA DE LIBERACIÓN DE SERVICIO SOCIAL

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de CBS
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco
PRESENTE

Por este medio me permito comunicar a usted que el alumno **Cecilia Cervantes Robles**, matrícula número **2153026372**, de la carrera de **QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**; realizó el Servicio Social en el **Departamento de Sistemas Biológicos, laboratorio no. 8**, con el proyecto intitulado: Estudio de las propiedades antiinflamatoria de la *Hyptis verticillata jacq* en modelos murinos bajo la asesoría del Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez.

El alumno realizó el servicio social en el periodo del día **21** de **Enero** del **2019** al **13** de **Junio** del **2021**; cubriendo un total de **480 horas**.

Por lo que solicito su apoyo para los trámites de liberación correspondientes.

Saludos cordiales.

Dr. Miguel Angel Zavala Sánchez No. Eco. 17767



DIVISIÓN: CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

LICENCIATURA: QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

ASESOR: DR. MIGUEL ÁNGEL ZAVALA SÁNCHEZ

Estudio de las propiedades antiinflamatoria de la *Hyptis verticillata*
jacq en modelos murinos.

CECILIA CERVANTES ROBLES

Índice

1. Introducción	3
2. Marco teórico	4
3. Objetivos	8
4. Planteamiento del problema.....	9
5. Metodología	9
6. Discusión y resultados	12
7. Conclusiones.....	19
8. Sugerencias.....	19
9. Referencias	19

1. Introducción

Desde la antigüedad se tiene registro del uso de plantas medicinales en distintas culturas, como ejemplo podemos mencionar a los egipcios, quienes escribieron en papiros el uso que le daban a distintas materias primas con fines curativos; en otras culturas como lo fue la India, se tiene registro del uso de ungüentos, infusos, macerados, el uso de cáñamo, cannabis y beleño como analgésicos; otro ejemplo lo tiene la cultura China con el uso de distintas plantas como es el jengibre, el acónito, la raíz de granado, el ruibarbo y el opio; en la época prehispánica en México, las culturas mexica y maya poseían un amplio conocimientos sobre el uso de plantas medicinales como fue el uso de zarzaparrilla, aguacate, el maíz, la hierba damiana, la hierba de pollo, solo por mencionar algunas (Asociación Española para la Cultura, el Arte y la Educación , s.f.). Pasaron los años y fueron los investigadores como el alemán Feliz Hoffman, el francés Henri Lerroux quienes descubrieron las propiedades analgésicas de la corteza de sauce, para sintetizar el ácido acetilsalicílico, medicamento que en 1899 fue lanzado al mercado como remedio para el dolor, la inflamación y para bajar la fiebre. Así podemos observar como la humanidad aprovecho su conocimiento en cuanto a las plantas medicinales, para conocer las sustancias que le confieren sus propiedades curativas, aislarlas o sintetizarlas y utilizarlas para fabricar medicamentos (Ferrandiz Ramírez, et al., 1999).

En la actualidad la Organización Mundial de la Salud (OMS) cuenta con una lista de medicamentos que son ampliamente utilizados en más de 150 países, teniendo en ésta, medicamentos esenciales para las necesidades sanitarias de distintas poblaciones; sin embargo (Departmental news, 2020); en la actualidad aún se continúa empleando los remedios naturales para aliviar distintos padecimientos, además se siguen descubriendo nuevas plantas con propiedades curativas conocidas, pero no han sido estudiadas lo suficiente para saber cuáles son las sustancias activas que contiene (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 2020). Éste trabajo se centra en conocer las propiedades antiinflamatorias y analgésicas de la planta *Hyptis verticillata jacq.*, proveniente de Veracruz; ésta planta es originaria de México, Guatemala, Honduras, el Salvador, Panamá y las Antillas, es conocida con distintos nombres comunes como: escobilla, hierba Martina o Martín, epazotillo, hierba negra, vara negra, etc (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, 2009). En estas regiones es utilizada para distintos padecimientos, entre ellos, la inflamación y el dolor; por lo cual el siguiente trabajo se dispone a obtener tres diferentes extractos (cloroformo, metanol e hidroalcohol) de la planta *Hyptis verticillata jacq.* y evaluar su efectividad en modelos *in vivo* experimentales, los cuales son: inducción de edema auricular con aceite de croton en ratones, para medir la actividad antiinflamatoria, utilizando como control positivo la indometacina, medicamento antiinflamatorio no esteroideo, cuyo mecanismo de acción es inhibir la producción de prostaglandina (Amin, et al., 2007); y el modelo de dolor inflamatorio con formalina, aplicado a ratas, utilizando como control positivo al diclofenaco, medicamento antiinflamatorio y analgésico que inhibe la actividad ciclooxygenasa (Gan, 2010).

2. Marco teórico

2.1 Plantas medicinales

En México las plantas medicinales son el recurso terapéutico por excelencia en la medicina tradicional; de acuerdo con estadísticas de la Organización Mundial de Salud (OMS), 80% de la población de los países en desarrollo recurre a distintos tipos de ellas para satisfacer o complementar sus necesidades médicas (Periódico la Jornada, 2013); por ello su eficacia se puede incrementar al combinar el conocimiento popular con el científico contribuyendo así a la conservación y recuperación de plantas medicinales en las comunidades (García López, et al., 2014); sin embargo, se estima que sólo 5% han sido estudiadas para validar química, farmacológica y biomédicamente los principios activos que contienen (Periódico la Jornada, 2013), desaprovechando los metabolitos secundarios que pueden ofrecer.



Figura 1: *Hyptis verticillata jacq*

2.2 *Hyptis verticillata jac*

La *Hyptis verticillata jacq* es una planta perteneciente a la familia *Lamiaceae*, originaria de Centro América, utilizado como remedio medicinal en Mesoamérica; el centro de México, de Honduras hasta Nicaragua; por las culturas Azteca y Maya. Actualmente se sabe que la planta se extiende desde Florida, pasando por México, hasta Colombia, en las Antillas mayores, Dominica y hasta Martinica. Dado que es ampliamente utilizada recibe distintos nombres populares; para fines de esta investigación utilizaremos como nombre común <<Hierba Martina>>, nombre común utilizado en Costa Rica (Boulogne, et al., 2013).

Es uno de los arbustos más abundantes de los *hyptis*; ésta especie crecen de 1 a 2.5 m de altura, se describe como una planta con tallos delgados, muy ramificado, leñoso, grueso, erecto, con largas y arqueadas ramas de flores blancas. Las hojas son opuestas, de 2 a 13 cm de largo, algo lanceoladas a lanceoladas-elípticas, claramente serradas o sub-enteras, de color verde oscuro, aromáticas y ligeramente amargas. Las flores son pequeñas, están en panículas, con una corola verdosa-blanca o púrpura, de 2 a 3 mm de largo y también son aromática. Esta planta forma grandes grupos en los pastos y a lo largo de los caminos; un ejemplo visual de dicha planta se puede observar en la figura 1 (Boulogne, et al., 2013) (Rojas Chávez, 2010).

En general los usos medicinales que se le dan a esta planta en las distintas regiones ya mencionadas están: la analgesia para las reumas, para el dolor estomacal, para los cólicos y para la cabeza; también se utiliza para tratar infecciones en la piel (granos o mezquinos), para bajar la fiebre, contra enfermedades del aparato digestivo; como

diarrea, eliminar parásitos intestinales, o para tratar la acides y reflujo; también se utiliza como antiabortivo y como antiinflamatorio. (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, 2009). Para fines de este trabajo, el interés central será el de estudiar sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas.

2.3 Metabolitos secundarios

En los estudios realizados se ha logrado aislar lignanos beta-peltatín y 4'-demetil-deoxipodofilotoxin en hojas y tallo; en los retoños se han identificado el triterpenol ácido oleanólico, y el esteroil beta-sitosterol (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, 2009). Entre otros compuestos identificados podemos encontrar lignanos, alcaloides, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, flavonoides y un polifenol (Boulogne, et al., 2013), de los cuales los flavonoides, taninos y otros compuestos polifenólicos son reconocidos como sustancias antioxidantes y antiinflamatorias (Brito Álvarez, et al., 2014).

2.4 Proceso inflamatorio.

Para comprender las propiedades antiinflamatorias de la planta Hierba Martina es necesario conocer cómo funciona el proceso inflamatorio en el cuerpo humano.

La inflamación es una respuesta inmunológica ante un estímulo; ya sea causado por agentes biológicos, químicos o físicos; que generan daño celular o tisular (García Barreno, 2008). El proceso inflamatorio se puede clasificar en dos fases: la primera es la fase aguda, esta se caracteriza por ser una respuesta rápida, humoral, que provoca vasodilatación e incremento de la permeabilidad microvascular, aumentando la cantidad de oxígeno, por consecuencia genera hinchazón, un edema tisular, calor y la estimulación de terminaciones nerviosas libres que generan dolor; estas son manifestaciones clínicas descritas por filósofo romano Celsus. Sí la inflamación aguda persiste, se inicia la fase crónica o sistémica, la cual es una respuesta de mayor duración, que provoca angiogénesis, destrucción tisular y por ende perdida de la función (García de Lorenzo y Mateos, et al., 2000) (Vega Robledo, 2008) (Alvarado Borges, et al., 2015).

A nivel celular se puede describir que el proceso inflamatorio comienza cuando ocurre un daño a nivel tisular, el cual puede involucrar la entrada de algún patógeno al cuerpo, los cuales son reconocidos por los mastocitos y basófilos, células que al reconocer al patógeno generan una cascada de señalización que induce la síntesis de citocinas como son la IL-1, IL-6 y el TNF, las cuales funcionan como quimioatrayentes como los factores C3a y C5a, que al encontrarse en la zona de lesión, estos se unen a los receptores de células cebadas y basófilos, generando la degranulación y liberación de la histamina, la cual provoca la vasodilatación y el aumento del flujo sanguíneo (Alvarado Borges, et al., 2015). También se liberan otras citoquinas como la IL-6 que estimula el crecimiento de linfocitos T y B, la IL-8 que atrae neutrófilos y linfocitos vírgenes, la IL-4 y la IL-10 que disminuyen la producción de IL-1 y el TNF; se liberan otros mediadores como es el facto activador de las plaquetas (PAF) el cual genera coagulación; y el óxido nítrico (NO), que

causa vasodilatación, inhibe agregación adhesión plaquetaria (García de Lorenzo y Mateos, et al., 2000).

Otro mecanismo de acción es causado por la IgE (inmunoglobulina E), que tiene su receptor unido a un mastocito, cuando entra en contacto con el antígeno se inicia en la membrana la activación de la adenilato-ciclasa y la fosfolipasa A2, generando un aumento del AMP cíclico, y la fosfolipasa ataca los lípidos de la membrana produciendo ácido araquidónico; a su vez aumenta la permeabilidad en la membrana permitiendo el paso del Ca^{++} que aumenta su concentración en el citoplasma del mastocito y junto con el AMP cíclico ayudan para que el mastocito pueda formar gránulos, dirigirlos hacia la membrana celular y así liberar mediadores al espacio extracelular, como son: el factor quimiotáctico del eosinófilo (ECF-A), el factor quimiotáctico del neutrófilo (NCF) y la heparina (Bailey, et al., 1984). Por otro lado, el ácido araquidónico producido puede continuar por 2 vías metabólicas diferentes:

- Vía ciclooxigenasa: Regulado por las enzimas ciclooxigenasa 1 (COX-1) o constitutiva, la cual es responsable de ciertas funciones que mantienen la homeostasis en el cuerpo, y la ciclooxigenasa 2 (COX-2) o inducible, que se presenta cuando se presenta un estímulo inflamatorio o daño tisular; estas enzimas producen prostaglandina G2 (PGG2), que después por la acción peroxidasa produce PGH2, que posteriormente por acción enzimática se transforma en PGI2, la cual aumenta la vasodilatación e inhibe la agregación de plaquetas, también produce PGE2 y PGD2, que producen vasodilatación y potencian el edema y en tromboxano A2, este último es un eicosanoide que produce vasoconstricción y facilita la agregación plaquetaria (Bailey, et al., 1984).
- Vía lipoxigenasa: El aumento de los niveles de Ca^{++} intracelular provoca que la enzima 5 lipooxigenasa (5LO) se una a la proteína activadora FLAP, esta introduce oxígeno al ácido araquidónico y genera 5-HPETE, después se reduce y genera 5-HETE, en esta última sustancia actúa la 5LO para atraer leucotrienos; esta vía causa vasoconstricción e incremento de la permeabilidad (Bailey, et al., 1984).

Todos estos mecanismos actúan de manera simultánea para generar la respuesta inflamatoria y reparar el daño tisular causado en la fase aguda.

2.5 Mecanismo del dolor

El dolor es una experiencia sensorial y emocional (subjetiva) desagradable, que experimentan todos los seres vivos que poseen un sistema nervioso central; esta experiencia puede estar asociada a una lesión tisular o expresada como si existiera una. El dolor se percibe mediante las terminaciones libres de fibras nerviosas localizadas en los tejidos cutáneos, músculos y en las paredes de algunas vísceras que pueden captar los estímulos. Existen tres tipos de receptores: los mecanorreceptores, que se estimulan cuando hay presión en la piel; los termorreceptores, que se estimulan cuando ocurren cambios de temperaturas extremas; y los polimodales, que responden indistintamente a

cualquier estímulo (nociceptivo, mecánico, térmico o químico) (Clerencia Sierra, et al., 2006) .

También se puede clasificar en tres tipos, por su intensidad (agudo o crónico), localización (somática o visceral) y su mecanismo fisiopatológico (nociceptivo o neuropático):

- Dolor agudo: Es la respuesta sensorial inmediata a la activación de nociceptores, generalmente se debe al daño tisular somático o visceral, este dolor se desarrolla, recibe un proceso de reparación y se cicatriza la lesión, si no presenta complicaciones, este dolor desaparece en horas o semanas.
- Dolor crónico: Dolor que persiste más allá de la lesión de origen e incluso aunque la lesión ya no esté; es síntoma de una enfermedad persistente que continúa pese a la ausencia de lesión.
- Dolor somático: Es el dolor que se caracteriza por generar una sensación clara y precisa en la piel, el músculo, las articulaciones, los ligamentos o los huesos.
- Dolor visceral: Se produce por lesiones en los órganos internos y se caracteriza porque la sensación es vaga y sin localización precisa, puede haber dolor, aunque no haya una lesión, puede tener reacciones motoras y vegetativas y no todas las vísceras tienen receptores nociceptivos.
- Dolor nociceptivo: Dolor sensorial, consecuencia de aplicar un estímulo que produce lesión o daño de órganos somáticos o viscerales, ocurre la activación neurofisiológica como respuesta las señales recibidas y su duración depende de la modulación de la señal.
- Dolor neuropático: Dolor anormal o patológico que resulta de una enfermedad o lesión causada a nivel del sistema nervioso central o del sistema nervioso periférico. En estos casos este tipo de dolor afecta de dos maneras: mediante la ausencia de reacción ante la lesión, es decir, reducciones anormales del umbral del dolor y dolor generado por el tacto o estímulos mecánicos; y el otro es la expresión alterada del sistema neurofisiológico, el cual puede generar una falta total de respuesta a las lesiones tisulares y al dolor (Puebla Díaz, 2005).

De manera fisiológica el dolor se describe mediante un mecanismo donde primero se activa y sensibiliza los receptores del dolor (nociceptores), este estímulo genera un potencial de acción que se conduce por las aferencias primarias, hasta el asta dorsal medular, de ahí se puede transmitir por las vías ascendentes (espino-encefálicas), llegando a los centros superiores (estructuras encefálicas), estas estructuras donde se procesa el estímulo pueden ser el retículo bulbar, donde se integran los sistemas de vigilancia, respiración, regulación cardiovascular, motricidad y nocicepción, el retículo-mesencefálico, se implican las reacciones emocionales, el comportamiento y la liberación de hormonas de estrés, las estructuras talámicas, que elaboran reacciones motrices y emocionales y el córtex cerebral, donde el sistema límbico participa generando emociones. Es importante recalcar que cuando ocurre un estímulo lo suficiente para causar dolor, se producirá una percepción dolorosa, por el contrario, si ocurre una lesión

más grave o de mayor trascendencia clínica, se producirá un estado de <<hiperalgesia>>, descrito como una respuesta exagerada al dolor o un aumento en la percepción del mismo. (Perena, et al., 2000).

El mecanismo del dolor se resume de la siguiente manera, todo inicia con la **transducción**, que es la fase en la cual se activan los nociceptores después de recibir un estímulo; posteriormente ocurre la **transmisión**, donde se genera un potencial de acción inducido por iones H^+ y K^+ , para despolarizar las cargas de la membrana e inducir un estímulo eléctrico que trasmite el mensaje a las demás células; y finalmente sucede la **modulación**, es un proceso de inhibir o transmitir a centros superiores (Sistema Nervioso Central) el estímulo recibido. Durante éste proceso encontramos una gran variedad de sustancias que intervienen durante este proceso, como la serotonina, la cual se produce en el núcleo magno y retículo del rafe, que al ser estimulados producen analgesia; el NO actúa como trasmisor del estímulo del dolor a nivel central, interviniendo en la liberación de diversos neurotransmisores como la serotonina, glutamato, acetilcolina, GABA y noradrenalina); el glutamato produce un aumento en la excitabilidad de los reflejos de flexión; GABA está asociado la sensibilidad ante el dolor; la sustancia P a nivel periférico intervienen en el proceso inflamatorio, produciendo vasodilatación, aumento de la permeabilidad, activación de células fagocitarias, liberación de histamina; la bradicinina es un péptido que se activa por la presencia de dos receptores ubicados en el tejido, que activan fibras mielínicas (delta) y amielínicas (C), que ayudan a la transmisión de los estímulos captados, además de liberar mediadores inflamatorios; la prostaglandina aumenta el Ca^{++} en las fibras C; los leucotrienos, derivados de la vía lipoxigenasa, generan sensibilidad en los nociceptores y estimulan la liberación de eicosanoides; las interleucinas estimulan los nociceptores, activando la síntesis de prostaglandinas; y los péptidos opioides endógenos, que modulan la inhibición del dolor, al disminuir la despolarización de la membrana e inhibir la liberación de la sustancia P, esto gracias a la unión que se genera en los receptores opioides (Perena, et al., 2000) (Armero, et al., 2004) .

3. Objetivos

Objetivo general

- Evaluar la actividad antiinflamatoria y antinociceptiva de la planta *Hyptis verticillata jacq* en modelos murinos.

Objetivos específicos

- Obtener los extractos metanólico, clorofórmico e hidroalcohólico de *Hyptis verticillata jacq*.
- Realizar pruebas fitoquímicas, para conocer los metabolitos secundarios presentes en la *Hyptis verticillata jacq*.

- Evaluar la actividad antiinflamatoria de los diferentes extractos de *Hyptis verticillata jacq* mediante el edema auricular inducido con aceite de crotón.
- Evaluar la actividad antinociceptiva de los extractos de *Hyptis verticillata jacq* mediante la prueba de formalina.

4. Planteamiento del problema.

La inflamación crónica es un proceso que ocurre en varias enfermedades, ya que puede empezar cuando no haya lesión y no terminar cuando debería; ésta puede ser causada por infecciones que no desaparecen, por reacciones inmunitarias anormales a los tejidos normales o por estados de obesidad, y con el tiempo, la inflamación crónica puede causar daño al ADN y conducir al cáncer (Instituto Nacional de Cáncer, 2015). Comúnmente la inflamación y el dolor suelen venir acompañadas, y el dolor se encarga de presentar una respuesta desagradable asociada a un daño tisular o potencial daño, la cual es un signo natural de alerta para nuestro cuerpo de que algo está no está bien (Del Arco, 2015), como consecuencia quien lo padece asiste al médico para conocer la causa de este padecimiento y conseguir alivio mediante algún tratamiento medicinal. Entonces se sabe que existe una amplia variedad de medicamentos para tratar la inflamación y calmar el dolor; sin embargo, éstos suelen presentar efectos secundarios o perder su efecto terapéutico a largo plazo; para ello se propone las plantas medicinales con efecto antiinflamatorio como un complemento que sustituyan a dichos medicamentos. Es la *Hyptis verticillata jacq* una planta poco estudiada, pero que cuenta con propiedades antiinflamatorias; gracias a los diterpenos y lactonas sesquiterpénicas que posee; moléculas que generan la inhibición del factor de transcripción nuclear kappa (Escarcéga, 2010). Es así como el siguiente proyecto propone el estudio de dichas propiedades para conocer más a fondo su actividad antiinflamatoria y analgésica para su uso como tratamiento terapéutico alternativo.

5. Metodología

5.1 Obtención de los extractos

Se realizaron tres extracciones sólido-líquido de 24 horas cada una; para ello se utilizaron 500 g de la planta seca y las extracciones fueron consecutivas en 500 mL de cada disolvente, primero con hexano, después con cloroformo y finalmente con metanol (el orden fue elegido por su aumento de polaridad. Posteriormente, se eliminó el exceso de disolvente con ayuda del rotaevaporador. (Zacconi & Hernández, 2009)-

5.2 Extracto hidroalcohólico

Se colocó en maceración 50 g de la planta seca y molida, en 50 mL de una disolución 1:3 agua y alcohol al 70% en un frasco ámbar, se dejó reposar por 15 días a temperatura ambiente (20° a 25°) (Cruz Carrillo & Pulido Suárez, 2013).

5.3 Pruebas fitoquímicas

Se realizó una extracción de la planta *Hyptis verticillata jacq* con HCl 1N, en un vaso de precipitado se dejó la planta durante 10 minutos con el disolvente mencionado, posteriormente se tomó una muestra de la extracción y se procedió a realizar las pruebas con los siguientes reactivos:

Tabla 1: Reactivos para realizar las pruebas fitoquímica y sus respectivas interpretaciones.

Reactivo	Prueba	Interpretación
Dragendorff	Alcaloides	Precipitado color pardo-naranja es positivo.
Cloruro de hierro III	Taninos	Aparición de turbidez hasta precipitado da un resultado positivo.
	OH fenólicos (lignanós)	Coloración amarilla indica presencia de 1 -OH, verde-grisácea 2 -OH adyacentes y azul-negro 3 – OH adyacentes.
Jones	Oxidación de alcoholes	Suspensión opaca de color verde a azul es prueba positiva para alcoholes primarios o secundarios, sí la solución permanece naranja es positivo para alcoholes terciarios
Baljet	Glucósidos cardiotónicos	Coloración naranja o roja es un resultado positivo.
	Lactonas sesquiterpénicas	

Descripción del estudio fitoquímico realizado de acuerdo con la metodología de Ardoino, et al. (2013) para las pruebas con los reactivos Dragendorff y Cloruro de hierro III, la metodología de Ochoa Amado y Sarmiento Mora (2018) para el reactivo de Baljet y la metodología de Adolfo, et al.(2013)para el reactivo Jones.

5.4 Actividad antiinflamatorias: Edema auricular inducido por aceite de croton

Para la actividad antiinflamatoria, se utilizaron 6 grupos, con 6 ratones cada uno; los ratones utilizados fueron machos de 25-30 g, cepa CD1 y se mantuvieron en condiciones de luz y oscuridad por 12 horas, con agua y alimento disponibles hasta su uso experimental. Se utilizó una disolución de aceite de croton en acetona al 5% (v/v) para inducir la respuesta inflamatoria.

Para generar la inflamación se aplicó aceite de croton de manera tópica, 10 µL en la parte delantera y 10 µL en la parte trasera de la oreja derecha de cada ratón. Después de 30 minutos se aplicaron los tratamientos o vehículos en la misma oreja y en la misma cantidad, de acuerdo con el orden correspondiente de administración.

Tras pasar 6 horas desde la administración del aceite de croton, se sacrificaron los animales y se obtuvo biopsia por sacabocado de cada oreja, se determinaron los pesos de ambas, se calculó la diferencia de pesos y finalmente el porcentaje de inhibición de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición del edema} = 100 - (\text{peso extracto} / \text{peso control negativo}) \times 100$$

Los tratamientos fueron administrados a una concentración de 2 mg por oreja y distribuidos de la siguiente manera:

- Control negativo: Aceite de croton al 5% (100 % de Inflamación)
- Control positivo: Indometacina
- Extracto A: Extracto clorofórmico
- Vehículo A: Acetona
- Extracto B: Extracto metanólico
- Vehículo B: Etanol-agua (80:20)
- Extracto C: Extracto hidroalcohólico
- Vehículo B: Etanol-agua (80:20)

5.5 Actividad antinociceptiva: Formalina al 1%

Se utilizaron ratas hembra de la cepa wistar, con un peso aproximado 180-200 g, se mantuvieron en condiciones de luz y oscuridad por 12 horas, con agua y alimento disponibles hasta su uso experimental.

Para inducir el dolor se les administró en la pata derecha, de manera subcutánea, 50 µL de formalina al 1%, después de 10 minutos se le administró el tratamiento y se procedió a contar las veces que la rata sacude su pata durante un minuto, esto se realizó cada cinco minutos, durante el lapso de una hora. Terminado el experimento se graficó el promedio de número de sacudidas por grupo, después se calculó el Área Bajo la Curva (ABC) de la fase 1 (0-10 minutos) y la fase 2 (11-60 minutos).

Los tratamientos fueron disueltos en Dimetilsulfóxido (DMSO) y suspendidos en solución salina. Para el experimento se usaron 3 grupos, con 4 ratas por grupo:

- Grupo 1 - Control negativo: Dolor + Vehículo al 5% (DMSO)
- Grupo 2 - Control positivo: Dolor + Diclofenaco (100 µg)
- Grupo 3 – Extracto A: Dolor + Extracto cloroformo (200 µg)

5.6 Toxicidad Aguda

Se utilizaron ratones macho CD-1 de 25-30 g de peso corporal los cuales se mantuvieron en condiciones de luz y oscuridad por 12 horas, con agua y alimento disponibles hasta su uso experimental.

Se administró por vía oral el extracto a evaluar de acuerdo con la metodología de Lorke (1983), los animales fueron distribuidos en grupos de 3 animales cada uno y se administró el extracto de acuerdo con lo siguiente:

En la fase 1 se administró las siguientes dosis, 10 mg/kg, 100 mg/kg y 1000 mg/kg.

En la fase 2 se administró las siguientes dosis, 1600 mg/kg, 2900 mg/kg y 5000 mg/kg.

En ambas fases tras administrar el extracto se dejó un periodo de observación de 24 horas para saber si los ratones sobrevivían a la dosis aplicada.

5.7 Análisis de datos y estadística

Los resultados de la actividad antiinflamatoria y analgésica fueron expresados con promedio \pm error estándar. Se les realizó un ANOVA con un α de 0.05, para ello se estableció:

H₀: La hipótesis nula, esta indica que no hay diferencia estadística significativa entre los tratamientos.

H_A: La hipótesis alterna, esta indica que por lo menos uno de los tratamientos tiene una diferencia estadística significativa.

Para la actividad antiinflamatoria se realizó la prueba de Tukey, y para la actividad analgésica se realizó la prueba de Dunnett.

6. Discusión y resultados

6.1 Obtención de los extractos

Se obtuvieron tres extractos secos, firmes y de color café oscuro, con un rendimiento de 0.1% de los extractos clorofórmico, metanólico y 2% del extracto hidroalcohólico.

Se realizaron pruebas de solubilidad a los extractos obtenidos dando como resultado que, el extracto metanólico e hidroalcohólico son solubles en etanol y acetona.

6.2 Pruebas fitoquímicas

Tabla 2: Resultados de la marcha fitoquímica realizada a la Hierba martina.

Reactivo	Prueba	Interpretación	Resultado
Dragendorff	Alcaloides	Coloración naranja-verdoso	Negativo
Cloruro de hierro III (FeCl ₃)	Taninos	Turbidez	Positivo
	OH fenólicos (lignanós)	Verde-grisaseo	Positivo
Jones	Oxidación de alcoholes	Sin cambio de color	Positivo
Baljet	Glucósidos cardiotónicos	Coloración naranja	Positivo
	Lactonas sesquiterpénicas		

En la tabla 2 se observan los resultados de las pruebas fitoquímicas, donde la prueba para alcaloides dio un resultado negativo, la prueba de FeCl₃ fue positiva, la turbidez señala la presencia de taninos y el color verde-grisaseo muestra la presencia de -OH adyacentes. Para la prueba de Jones, el ensayo no cambió de color, lo que indica la existencia de alcoholes terciarios. Por último, la prueba de Blajet dio positivo a la presencia de glucósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas. Los resultados concuerdan con los reportados en la literatura. Tovar Hernandez (2007) quien reporta la identificación de un compuesto fenólico (2,6-bis (1, 1-dimetiletil)-4-metil) mediante cromatografía de gases a partir del aceite esencial de *Hyptis verticillata* Jacq.

En otro artículo se describe que la planta posee distintos compuestos, dependiendo de la parte de la planta que se utilice para extraer el aceite esencial, por ejemplo, en las hojas se encuentran compuestos como alcaloides, flavonoides, sesquiterpenlactonas y taninos; en cuanto al tallo se identifican alcaloides, sesquiterpenlactonas, taninos y triperpentos, y en la raíz taninos, sesquiterpenlactonas y triterpenos (Dominguez Escobedo, 2008). Boulogne (2013) recopilan datos sobre dicha planta, señala que en general tiene un alto contenido de compuestos lignanos, y esta reportado por varios autores la presencia de un alcaloide, un polifenol, compuestos monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y flavonoides (Boulogne, et al., 2013).

De acuerdo con la bibliografía, se sabe que los taninos intervienen en mecanismos para aumentar la actividad antioxidante en el plasma, aumentar las sustancias que regulan la vasodilatación y generar factores que ayudan a disminuir la respuesta inflamatoria (Álvarez Parrilla, et al., 2015). Otros metabolitos que intervienen en el proceso antiinflamatorio son los compuestos fenólicos, que pueden reducir la respuesta de la PGE₂ y regular la producción de IL 1 y 6, así como el TNF, los flavonoides pueden intervenir en la producción del TNF y del NO, y los alcaloides ayudan en la reducción de citoquinas proinflamatorias, como las IL 2, 4, 6 y el TNF (Caballero Guitiérrez & González, 2016) (Guillamón, 2018).

6.4 Actividad antiinflamatoria

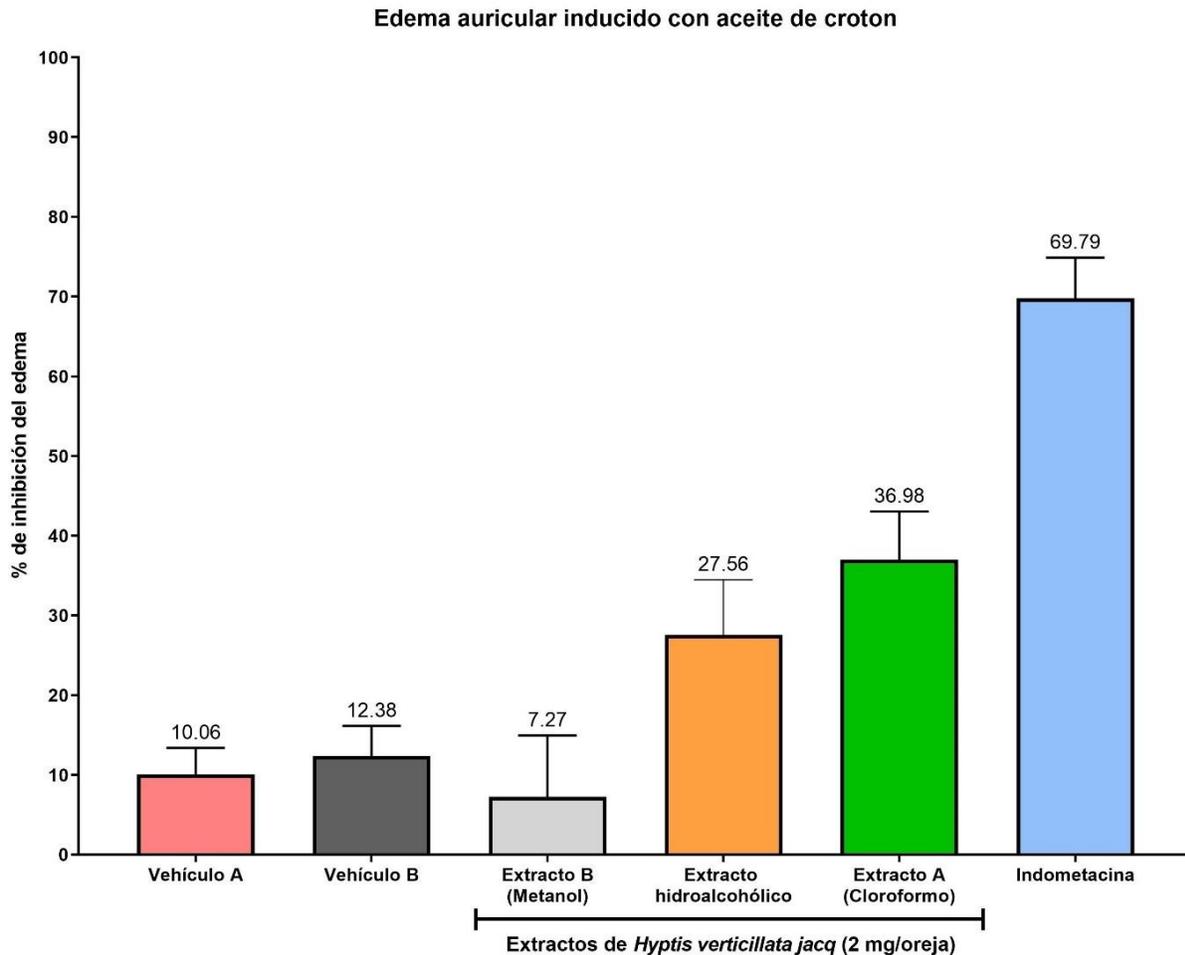


Figura 2. Efecto antiinflamatorio de los extractos CHCl_3 , MeOH, Hidroalcohólico, Indometacina y Vehículo en el modelo del edema auricular inducido con aceite de croton. Los valores se presentan con las medias de porcentajes de inhibición \pm error estándar de cada grupo evaluado; $n=6$; ANOVA de una vía seguido de una prueba de comparaciones múltiples (Tukey).

Para medir la actividad antiinflamatoria, se realizó una comparación de pesos entre la oreja a la que se le indujo inflamación (oreja derecha), y a la que no (oreja izquierda); las orejas sin inflamación tienen un peso promedio de 11.42 mg, mientras que las orejas con inflamación y sin tratamiento, tiene un peso promedio de 28.38 mg, esto es equivalente al 100% de inflamación. De acuerdo a los tratamientos aplicados se obtuvieron los siguientes resultados: en el grupo con indometacina, el peso promedio de las orejas fue de 16.78 mg, con un porcentaje de 69.79% de actividad antiinflamatoria; en cuanto a los tratamientos del extracto de Hierba Martina, el extracto de Metanol presentó un peso promedio de 27.03 mg y una actividad antiinflamatoria de 7.27%, el extracto Hidroalcohólico fue de 26.4 mg y un porcentaje de 26.36%; y el extracto Cloroformo tuvo un peso promedio de 22.05 mg y un porcentaje de inhibición de 36.98%, siendo el extracto con mayor actividad antiinflamatoria de los tres extractos probados.

Comparando estos resultados con el trabajo de Brito Álvarez, et al. (2014), en el cual obtuvieron un extracto producto de una decocción de las hojas secas de la planta y realizaron el mismo modelo de inflamación en orejas de ratones, su porcentaje de inhibición del edema fue de 15.11%; ellos consideran que para que exista una actividad farmacológica, el porcentaje de inhibición debe ser mayor al 30%, el cual resulta favorecedor para el extracto cloroformo, que tuvo un porcentaje de $36.98 \pm 8 \%$.

Los resultados de la evaluación del efecto antiinflamatorio de la planta concuerdan con los reportados por otros autores; Bauer, et al. (1995), evaluaron la actividad antiinflamatoria de la *Hyptis verticillata Jacq*, mediante la prueba de HET-CAM (test de irritación ocular) para medir el retraso en la hemorragia que provocan ciertas sustancias; a partir del extracto crudo de acetona, obtuvieron un retraso de la irritación del 28.8% en comparación con su control, y el en ensayo PSI (Inhibición de la Prostaglandina Sintasa) cuyos valores fueron de 88%; los autores concluyen que cuando se tienen valores en el ensayo HET-CAM superiores a 20% y valores de entre 20-70 % en el ensayo PSI, hay una actividad significativa en la inhibición de la prostaglandina sintasa, y por ende la respuesta inflamatoria, por lo que los autores corroboran la actividad antiinflamatoria de la planta.

En otros estudios donde se hicieron decocciones de la planta; administraron de manera oral un extracto crudo acuoso (50% de decocción), su resultado fue comparable con el control (Herrera, 1992); y otro estudio, donde la administración tópica de un extracto crudo (30% de decocción) obtuvo un 15% de reducción de la inflamación en comparación con el control (Frias, et al, 2011).

Tomando en cuenta los resultados y la bibliografía, podemos observar que los procesos de decocción para extraer propiedades antiinflamatorias de la planta *Hyptis verticillata jacq*, son satisfactorios, ya que en los trabajos citados, tanto como en los resultados de éste, se destacan porcentajes de actividad antiinflamatoria significativos, que indican una actividad farmacológica de la planta.

6.5 Actividad analgésica

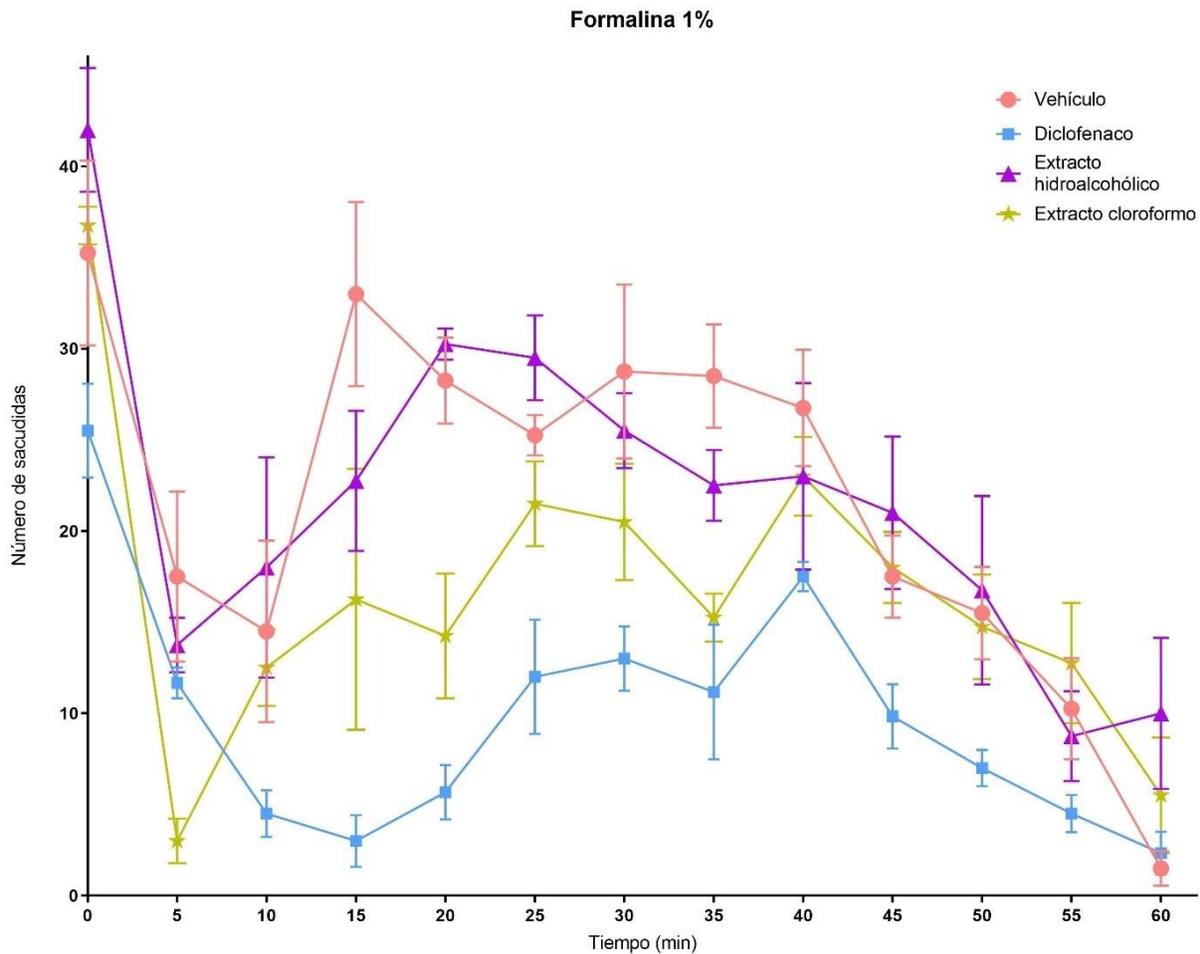


Figura 3. Curso temporal del efecto del extracto CHCl_3 , MeOH, Diclofenaco y Vehículo en la prueba de formalina al 1%. Los datos son el promedio de 6 ratas \pm error estándar.

En la figura 3 se muestra el curso temporal del efecto analgésico en los distintos tratamientos de acuerdo con el número de sacudidas promedio de cada grupo. De acuerdo con esta misma figura, se observa que en el minuto 0 el número de sacudidas es muy alto en todos los grupos, esto se debe al dolor causado tras la administración (inyección subcutánea) del tratamiento en la pata del animal. Después observamos el número de sacudidas de cada grupo, cada 5 minutos, durante el lapso de una hora; podemos decir a groso modo; que el grupo de diclofenaco es el que presentó el menor número de sacudidas durante el experimento, a comparación de los demás tratamientos, e incluso tomando en cuenta que algunos tratamientos, como lo es el del extracto hidroalcohólico, tienen una respuesta similar a la que presentó el grupo vehículo (grupo sin tratamiento). Esta figura cumple con el propósito de mostrarnos el comportamiento de los grupos a lo largo del experimento.

El modelo está dividido en dos fases, una fase temprana (0-10 minutos), la cual está asociada directamente al dolor agudo (nocicepción), y una fase tardía (11-60 minutos)

que va relacionada a la respuesta inflamatoria (Hunskaar & Hole, 1986); las cuales se representa mejor en la figura 4 donde se grafica el Área Bajo la Curva de cada tratamiento en cada fase.

En la figura 4 se observa la primera fase del Área Bajo la Curva de los cuatro tratamientos; donde el grupo vehículo (sin tratamiento) presenta un ABC de 211.88, parecido al que presenta el tratamiento hidroalcohólico de 218.75, los tratamientos con diclofenaco y extracto clorofórmico, tienen un ABC similar de 125.63 y 138.13 respectivamente; esto indica que el extracto clorofórmico tiene una actividad antinociceptiva estadísticamente igual que el diclofenaco durante la primera fase del experimento.

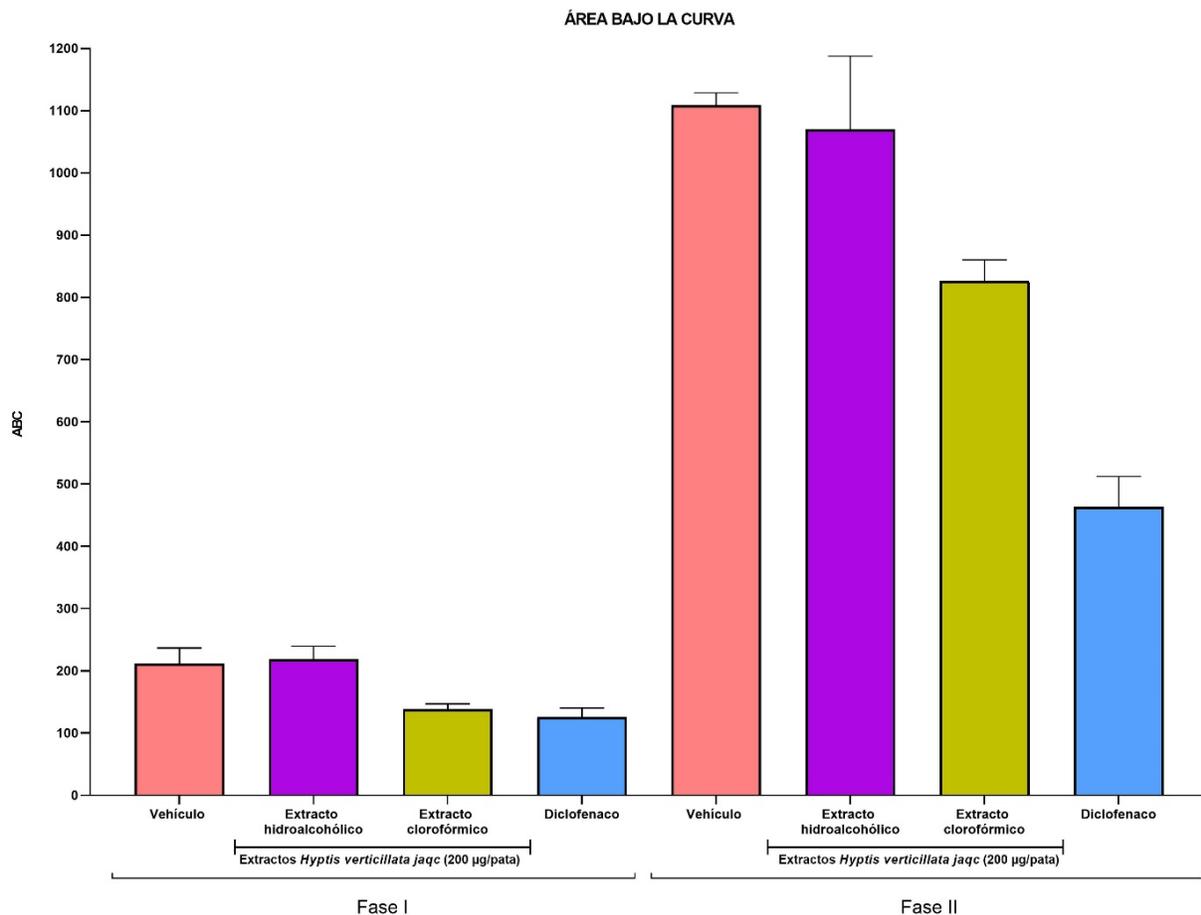


Figura 4. Área bajo la curva del número de sacudidas del grupo Diclofenaco, Vehículo y extractos de *Hyptis verticillata* jacq en la prueba de formalina al 1%. Fase I de 0-10 min tras la administración de 50 μ L de formalina al 1%. Fase II 10-60 min. Los resultados están expresados como la media aritmética \pm error estándar, n=6 poner estadística.

Ahora, tomando en cuenta la fase II, las ABC del grupo vehículo y del extracto hidroalcohólico nuevamente son muy parecidos, de 1108.75 y 1070.00 respectivamente, denotando que este extracto no presenta ninguna actividad antinociceptiva. El extracto clorofórmico tiene un ABC de 826.25 y el grupo diclofenaco una de 463.13; lo que indica

que el extracto cloroformo presenta actividad antinociceptiva, pero no la misma en comparación al diclofenaco durante esta fase; en otras palabras; no presenta la misma actividad antiinflamatoria, característica de esta fase, que el medicamento diclofenaco.

En un recopilado bibliográfico presentado por Boulogne, et al. (2013), se habla ampliamente de la actividad analgésica que tiene la *Hyptis verticillata Jacq*, utilizando generalmente el té de sus hojas para aliviar distintos padecimientos de dolor; por ejemplo, en un estudio se reportó el uso de un extracto acuso de las hojas secas (30% de decocción) aplicada de manera oral en ratones, para inducir antinocicepción, mostrando resultados positivos, pero solamente cuando éste se aplica en altas dosis de 10g/kg. (Moron, et al; 2008).

De acuerdo a los resultados anteriores y los obtenidos en bibliografía, podemos decir que el extracto hidroalcohólico no tiene efecto antinociceptivo en ninguna de las fases del experimento. En cuando al extracto cloroformico, si tiene actividad ante el dolor agudo durante la primera fase; sin embargo, durante la segunda fase su actividad, aunque significativa, no es comparable con la antiinflamación que presenta el diclofenaco. Tomando en cuenta lo antes dicho con los resultados obtenidos por Moron, et al (2008), podemos considerar que una dosis más alta del extracto cloroformo podría mejorar los efectos antiinflamatorios durante la segunda fase.

6.6 Toxicidad Aguda

Tabla 3: Resultados de la prueba de toxicología del extracto cloroformo.

Sustancia	1º fase del experimento		2º fase del experimento	
	Dosis (mg)	Mortalidad	Dosis (mg)	Mortalidad
Extracto cloroformo	10	0/3	1600	0/3
	100	0/3	2900	0/3
	1000	0/3	5000	0/3

Se evaluó la toxicidad del extracto cloroformico, dado que fue el único extracto que mostró actividad analgésica y antinociceptiva. En la tabla 3 se muestra el resultado de las distintas dosis aplicadas para la prueba de toxicidad aguda, donde ninguna de las dosis aplicadas afecto a los ratones, por ello se asume, de acuerdo con la metodología de Lorke (1983), que su DL50 es mayor a 5000 mg/kg, y por tanto es una sustancia sin interés práctico en el campo de la toxicología; este resultado se puede comparar con el obtenido en un estudio donde se analizó la toxicidad del aceite esencial de *Hyptis verticillata Jacq* en un crustáceo branquiópodo conocido como *Artemisa salina* y sus resultados fueron valores de DL50 > 100 µg/mL, por lo que consideraron que el aceite no es tóxico (Tovar Hernández, 2007) (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, 2009).

7. Conclusiones

- La *Hyptis verticillata* Jacq es una planta que contiene metabolitos que son de interés farmacológico.
- El extracto con mayor actividad inflamatoria es el extracto cloroformo.
- El extracto cloroformo presentó actividad antinociceptiva.

8. Sugerencias

- Realizar más pruebas fitoquímicas para identificar otros compuestos reportados en la bibliografía, se sugiere el reactivo de Shinoda para identificar flavonoides y la prueba de Liebermann-Burchard para triterpenos.
- Para el ensayo de las propiedades antinociceptivas puede aumentarse la dosis del extracto cloroformo y observar si presenta mayor actividad durante la fase II.
- Realizar una cromatografía en columna abierta para aislar la fracción de mayor interés farmacológico.

9. Referencias

Adolfo, B. C. J. M., Cruz Sosa, F. & López Cruz, J. I., 2013. *Manual de prácticas de laboratorio análisis funcional orgánico*. México. D.F.: s.n.

Alvarado Borges, A. y otros, 2015. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. *Revista Finlay*, 5(1), pp. 47-62.

Álvarez Parrilla, E. y otros, 2015. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición hospitalaria*, 31(1), pp. 55-66.

Amin, S. B., Glantz, J. C. & Sinkin, R. A., 2007. Meta-analysis of the effect of antenatal indomethacin on neonatal outcomes. 197(5).

Ardoino, S., Boeris, M. & R.E., T., 2013. Caracterización fitoquímica de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* (algarrobo) y *Prosopis flexuosa* var. *depressa* (alpataco), plantas con acción farmacológica. *Revista Ciencias Veterinarias*, 15(1), pp. 117-121.

Armero, P. y otros, 2004. Bases génicas del dolor. *Rev. Soc. Esp. Dolor*, Volumen 11, pp. 444-451.

Asociación Española para la Cultura, el Arte y la Educación, s.f. *Naturaleza educativa*. [En línea] Available at: <https://natureduca.com/plantas-medicinales-historia-herboristeria-y-farmacologia-05.php> [Último acceso: 07 Julio 2020].

Bailey, P. J., Davies, P. & M., G. M., 1984. The role of arachidonic acid oxygenation products in pain and inflammation. *Ann. Rev. Immunol*, Volumen 2, pp. 335-353.

Bauer, R. y otros, 1995. Biological and pharmacological activities and further constituents of *Hyptis verticillata*. *Planta Med.*, Volumen 61, pp. 227-232.

Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, 2009. *Medicina tradicional mexicana*. [En línea] Available at:

http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/flora2.php?l=4&t=Hierba%20martina&po=popoluca&id=5480&clave_region=24

[Último acceso: 16 10 2018].

Boulogne, I., Delgoda, R., Mitchell, S. & Picking, D., 2013. *Hyptis verticillata* Jacq: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*, Issue 147, pp. 16-41.

Brito Álvarez, G. y otros, 2014. Validación preclínica del efecto antiinflamatorio tópico de cinco plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 1(19), pp. 40-50.

Caballero Guitiérrez, L. & González, G. F., 2016. Alimentos con efecto anti-inflamatorio. *Acta médica peruana*, 33(1).

Clerencia Sierra, M., García de Diego, F. I., López Forniés, A. & Ortíz de Landázuri, J. G., 2006. *Tratado de geriatría para residentes*. Madrid: Sociedad española de geriatría y gerontología .

Cruz Carrillo, A. & Pulido Suárez, N. J., 2013. Eficacia de los extractos hidroalcohólicos de dos plantas sobre garrapatas adultas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Sanidad animal*, 14 febrero, 14(1), pp. 92-93.

Del Arco, J., 2015. Curso básico sobre dolor. Tema 1. Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico. *Elsevier*, 29(1), pp. 36-43.

Departmental news, 2020. *Organización Mundial de la Salud*. [En línea]

Available at: <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2020-who-launch-e-eml>

[Último acceso: 07 Julio 2020].

Dominguez Escobedo, R. D., 2008. *Estudio de las plantas medicinales conocidas por la población de la comunidad de primavera, del municipio de Ixcán, Quiché, utilizando técnicas etnobotánicas*. Guatemala: Universidad de San Carlos Guatemala.

Escarcéga, R. O., 2010. El factor de transcripción nuclear kappa en las enfermedades humanas.. *Revista de Medicina Instituto Mexicano de Seguro Social*, 48(1), pp. 55-60.

Fernández Urquiza, F. & Torres Fuentes, M., 2013. *INFLAMACIÓN Y PLANTAS MEDICINALES*. [En línea].

Ferrandiz Ramírez, D. y otros, 1999. La aspirina. El medicamento del siglo. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 3(3).

Gan, T. J., 2010. Diclofenac: An Update on Its Mechanism of Action and Safety Profile. *Current Medical Research & Opinion*, 26(7), pp. 1715-1731.

García Barreno, P., 2008. Inflamación. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 102(1), pp. 91-159.

García de Lorenzo y Mateos, A., López Martínez, J. & Sánchez Castilla, M., 2000. Respuesta inflamatoria sistémica: fisiopatología y mediadores. *Medicina Intensiva*, 25(8), pp. 353-360.

García López, E. y otros, 2014. PLANTAS ÚTILES EN LA MEDICINA TRADICIONAL DE MALPASITO-HUIMANGUILLO, TABASCO, MÉXICO. *POLIBOTÁNICA*, Issue 37, pp. 109-134.

Granadas Soto, V. & Torres López, J. E., 2001. Participación de la ciclo-oxigenasa-1 en el dolor inflamatorio. *Universidad y ciencia*, diciembre.34(17).

Guillamón, E., 2018. Efecto de compuestos fitoquímicos del género *Allium* sobre el sistema inmune y la respuesta. *Ars Pharmaceutica*, 59(3).

Hunskar, S. & Hole, K., 1986. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division)*, pp. 103-114.

Instituto Nacional de Cáncer, 2015. *Instituto Nacional de Cáncer*. [En línea]
Available at: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/inflamacion-cronica>
[Último acceso: 18 octubre 2018].

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 2020. *Gobierno de México*. [En línea]
Available at: <https://www.gob.mx/inifap/articulos/plantas-medicinales-tradicion-ancestral>
[Último acceso: 07 Julio 2020].

Lorke, D., 1983. A new approach to practical acute toxicity testing. *Archives of toxicology*, pp. 275-287.

Ochoa Amado, L. S. & Sarmiento Mora, A. J., 2018. Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (L. f.) DC. (Melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica. *Universidad de ciencias aplicadas y ambientales*, pp. 26-44.

Perena, M. F., Perena, M. J., Rodrigo, M. D. & Romera, E., 2000. Neurofisiología del dolor. *Rev. Soc. Esp. Dolor*, 7(2), pp. 11-17.

Periódico la Jornada, 2013. Usan plantas medicinales casi 80% de los países en desarrollo, según la OMS. *La Jornada*, 24 Enero.

Puebla Díaz, F., 2005. Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S. Dolor iatrogénico. *Oncología*, Marzo.28(3).

Rojas Chávez, S., 2010. *Maleza de México, ficha - Hyptis verticillata Jacq. s.l.:CONABIO*.

Tovar Hernández, J. C., 2007. *Composición química, actividad antibacteriana y tóxica de aceites esenciales de seis especies medicinales de Lamiaceae en el estado de Hidalgo*. Mineral de la Reforma, Hidalgo: Universidad Autónoma del estado de Hidalgo.

Vega Robledo, G. B., 2008. Inmunología para el médico general. *Revista Facultad de Medicina UNAM*, 51(5), pp. 220-222.

Zacconi, F. C. M. & Hernández, S. A., 2009. Aceite de almendras dulces: extracción, caracterización y aplicación. *Química NOVA*, 32(5).



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

El presente documento evidencia el VISTO BUENO al reporte final de la alumna CECILIA CERVANTES ROBLES, matrícula número 2153026372; lo mismo que el cierre formal de las actividades realizadas en su SERVICIO SOCIAL:

Fecha: 30 DE AGOSTO DE 2021

Vo. Bo. Dr. Miguel Ángel Zavala Sánchez
No. Eco. 17767