



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS  
AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE BOTÁNICA

## **EVALUACIÓN DEL POTENCIAL TERAPÉUTICO DE *Brassica juncea* (L.) Czern EN UN MODELO *IN VIVO* DE DEMENCIA, INDUCIDO CON ESCOPOLAMINA EN RATONES**

LAURA YUNUEN HERNÁNDEZ SÁNCHEZ

T E S I S  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2019

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

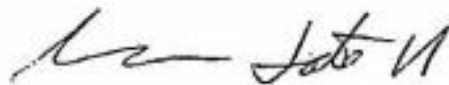
En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe LAURA YUNUEN HERNÁNDEZ SÁNCHEZ, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor RAMÓN MARCOS SOTO HERNÁNDEZ, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis EVALUACIÓN DEL POTENCIAL TERAPÉUTICO DE Brassica juncea (L.) Czern EN UN MODELO IN VIVO DE DEMENCIA INDUCIDO CON ESCOPOLAMINA EN RATONES

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 26 de JULIO de 2019



Firma del  
Alumno (a)



Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: "Evaluación del potencial terapéutico de *Brassica juncea* (L.) Czern en un modelo *in vivo* de demencia, inducido con escopolamina en ratones" realizada por la alumna: Laura Yunuen Hernández Sánchez bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS

BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. Ramón Marcos Soto Hernández

DIRECTOR DE TESIS



Dra. Mireya Alcaraz Zubeldia

ASESOR



Dra. Laura Elisa Ramos Languren

ASESOR



M.C. Rubén San Miguel Chávez

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio de 2019.

Evaluación del potencial terapéutico de *Brassica juncea* (L.) Czern en un modelo *in vivo* de demencia, inducido por escopolamina en ratones

Laura Yunuen Hernández Sánchez, M. en C.  
Colegio de Postgraduados, 2019

## RESUMEN

Las enfermedades neurodegenerativas, como las que presentan estados demenciales, conducen a una pérdida progresiva de la estructura y las funciones neuronales. Esto constituye actualmente uno de los principales retos para la medicina moderna. Actualmente no existe un tratamiento que evite su aparición, por lo que las terapias actuales se encuentran dirigidas al manejo de los síntomas y son de carácter paliativo. Actualmente, ha aumentado el interés por el empleo de fitoquímicos con potencial antiinflamatorio y antioxidante, posicionando a las plantas medicinales como fuente de compuestos con potencial terapéutico. En la medicina tradicional de la India, las semillas de mostaza (*Brassica juncea* (L.) Czern) son utilizadas para curar y prevenir enfermedades como afecciones del sistema nervioso. El objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial neuroprotector del extracto acuoso obtenido de las semillas de mostaza en un modelo de demencia inducida por escopolamina en ratones.

Los resultados corroboraron el potencial terapéutico de *B. juncea* en contra del deterioro cognitivo inducido por escopolamina en ratones. Los componentes de diferente naturaleza química, en el extracto acuoso administrado en el alimento a los animales, en una dosis de 400 mg/kg incrementaron significativamente los niveles de glutatión (GSH) hipocampal. El efecto de su potencial como inhibidor de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en el hipocampo fue dependiente de la dosis. Esto mejoró el desempeño cognitivo de los animales en el modelo de escopolamina, durante las pruebas de memoria de trabajo, en el equipo de laberinto en T. En general, los resultados permiten sugerir que el extracto acuoso de las semillas de mostaza contiene componentes, con potencial para el tratamiento de estados demenciales, y que los efectos podrían estar relacionados parcialmente con su capacidad como antioxidante y su impacto como inhibidor de la actividad de AChE.

**Palabras clave:** *Brassica juncea* (L.) Czern, demencia, acetilcolinesterasa, glutatión reducido.

Evaluación del potencial terapéutico de *Brassica juncea* (L.) Czern en un modelo *in vivo* de demencia, inducido por escopolamina en ratones

Laura Yunuen Hernández Sánchez, M. en C.  
Colegio de Postgraduados, 2019

### **ABSTRACT**

Neurodegenerative diseases, such as those with demential stages, lead to a progressive loss of neuronal structure and functions. This is currently one of the main challenges actually for medicine. Currently there is no treatment that prevents it's occurrence, so current therapies are aimed at the management of symptoms and are palliative. Currently, interest in the use of phytochemicals with anti-inflammatory and antioxidant potential has increased, positioning medicinal plants as a source of compounds with therapeutic potential. In traditional Indian medicine, mustard seeds (*Brassica juncea* (L.) Czern) are used to cure and prevent diseases such as nervous system conditions. The objective of the present study was to evaluate the neuroprotective potential of the aqueous extract obtained from mustard seeds in a model of dementia induced by scopolamine in mice.

The results corroborated the therapeutic potential of *B. juncea* against the cognitive deterioration induced by scopolamine in mice. The components of different chemical nature, in the aqueous extract administered in the feed to the animals, at a dose of 400 mg / kg significantly increased the levels of glucathione (GSH) hippocampal. The effect of its potential as an inhibitor of the activity of the enzyme acetylcholinesterase (AChE) in the hippocampus was dose dependent. This improved the cognitive performance of the animals in the scopolamine model, during working memory tests, in the T maze equipment. In general, the results suggest that the aqueous extract of mustard seeds contains components, with potential for the treatment of demential stages, and that the effects could be partially related to its capacity as an antioxidant and it's impact as an inhibitor of AChE activity.

#### **Key words:**

*Brassica juncea* (L.) Czern, dementia, acetylcholinesterase, reduced glutathione.

Esta Tesis de maestría ha sido realizada gracias a la ayuda económica de una Beca de Posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyt) (2016-2017)

## AGRADECIMIENTOS

Para la consecución de esta Tesis fue necesaria la ayuda de muchas personas a las que quiero expresar mi más profundo agradecimiento:

En primer lugar, a mi directora de Tesis, la Dra. Mireya Alcaraz, por su dedicación y disponibilidad, por su ayuda científica, y sobre todo por haberme comprendido siempre, mil gracias por sus consejos, su cercanía y disposición a estar siempre en todo lo que fuera necesario, incluso más allá de lo profesional, aportándome seguridad y guiándome en todo momento.

A mi consejero el Dr. Marcos Soto, por su gran apoyo durante mi estancia académica en el colegio y por haberme abierto las puertas de su laboratorio.

Un agradecimiento muy especial al M. en C. César Augusto Rodríguez Balderas, jefe del bioterio del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía por haberme brindado el apoyo y los conocimientos para el manejo y administración de los animales requeridos para este estudio. Sin su apoyo esta tesis no se hubiese logrado.

Así como mi gratitud a la Dra. Eva González Trujano del Instituto Nacional de Psiquiatría, por haberme abierto nuevamente las puertas de su laboratorio y permitirme elaborar la extracción de las semillas para su evaluación.

Agradezco la ayuda técnica del Maestro Rubén Chávez por su disposición y amabilidad para enseñarme sobre HPLC.

También quiero agradecer a todas las personas con las que de diversas formas he trabajado en el laboratorio tanto de Fitoquímica del Colegio de Postgraduados, así como de Neuroquímica, en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Germán y Alfonso, gracias por sus aportes técnicos y de conocimiento. Espero contar siempre con su amistad.

## DEDICATORIA

*Este trabajo es dedicado a mis padres, a mis hermanos y principalmente a mi hermosa Elizabeth porque sin ellos casi nada de lo que he hecho en mi vida sería posible. A ellos les dedico esta Tesis porque son y serán siempre lo más importante.*



## CONTENIDO

	Pág
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT .....	v
LISTA DE CUADROS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVOS .....	3
3. HIPÓTESIS .....	3
4. JUSTIFICACIÓN .....	3
5. REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
5.1 Panorama mundial de la salud.....	4
5.2 Demencia .....	4
5.3 Clasificación de los tipos de demencia.....	5
5.4 Terapéutica dentro de las demencias .....	7
5.5 Herbolaria y medicina tradicional en la actualidad .....	8
5.6 Plantas medicinales en el tratamiento y prevención de la demencia .....	9
5.7 Estudios preclínicos de plantas con potencial terapéutico en demencias .....	14
5.8 <i>Brassica juncea</i> L. Czern .....	18
5.9 Distribución de <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern .....	19
5.10 Usos etnobotánicos de <i>Brassica juncea</i> (L) Czern.....	20
5.11 Composición química de <i>Brassica juncea</i> (L) Czern.....	21
5.12 Farmacología .....	23
6. MATERIALES Y MÉTODOS .....	24
6.1 Material vegetal.....	24
6.2 Obtención del extracto .....	24
6.3 Sujetos .....	25
6.4 Administración de los tratamientos.....	25
6.5 Diseño experimental.....	26
6.6 Cambio ponderal .....	27
6.7 Evaluación de la conducta .....	28

6.7.1 Laberinto en T (T- Maze) .....	28
6.8 EVALUACIÓN BIOQUÍMICA .....	29
6.8.1 Cuantificación de proteínas .....	29
6.8.2 Actividad de AChE hipocampal .....	30
6.8.3 Contenido hipocampal de GSH.....	31
6.9 Evaluación fitoquímica del extracto .....	32
6.9.1 Cuantificación de fenoles totales:.....	32
6.9.1.1 Preparación de la muestra de <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.....	32
6.9.1.2 Preparación de la muestra de aceite de aguacate.....	32
6.9.2 Cuantificación de flavonoides totales .....	34
6.9.2.1 Preparación de la muestra de <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.....	35
6.9.2.2 Preparación de la muestra de Aceite de aguacate .....	35
7. RESULTADOS .....	36
7.1 Rendimiento del extracto.....	36
7.2 Cambio ponderal .....	37
7.3 Prueba de memoria espacial en el Laberinto en T .....	37
7.3.1 Efecto de la dosis de 200 mg/kg en la respuesta cognitiva.....	37
7.3.2 Efecto de la dosis de 400 mg/kg en la respuesta cognitiva.....	38
7.4 Evaluación de la actividad de AChE hipocampal .....	39
7.4.1 AChE en la dosis de 200 mg/kg.....	40
7.4.2 AChE en la dosis de 400 mg/kg.....	41
7.5 Contenido hipocampal de GSH.....	41
7.5.1 Valoración antioxidante de <i>Brassica</i> a la dosis de 200 mg/kg .....	42
7.5.2 Valoración antioxidante de <i>Brassica</i> a la dosis de 400 mg/kg .....	43
7.6 Cuantificación de Fenoles totales.....	43
7.7 Cuantificación de flavonoides totales .....	45
8. DISCUSIÓN.....	46
9 CONCLUSIONES .....	49
10. LITERATURA CITADA .....	50

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Criterios diagnósticos para el.....	6
Cuadro 2. Criterios diagnósticos para el trastorno neurocognitivo mayor (DSM5) .....	6
Cuadro 3. Tratamientos farmacológicos aprobados para retrasar el deterioro cognitivo .....	8
Cuadro 4. Plantas reportadas por su uso en la medicina tradicional por sus efectos contra la demencia. ....	10
Cuadro 5. Plantas con estudios preclínicos que han demostrado su potencial uso contra la demencia. ....	14
Cuadro 6: Compuestos químicos aislados de <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern y su potencial terapéutico .....	22
Cuadro 7. Efectos terapéuticos sugeridos para <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.....	23
Cuadro 8. Curva de calibración para la cuantificación de proteínas.....	30
Cuadro 9. Curva de calibración para la cuantificación de GSH.....	31
Cuadro 10. Curva de calibración para la detección de fenoles.....	32
Cuadro 11. Curva de calibración para la detección de flavonoides.....	35
Cuadro 12. Cambios ponderales a lo largo de dos semanas para estimar la ingesta de alimento .....	37
Cuadro 13. Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales.....	44
Cuadro 14. Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales .....	45

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Flores de <i>B. juncea</i> .....	18
Figura 2. Fruto de <i>B. juncea</i> .....	18
Figura 3. Semillas de <i>B. juncea</i> .....	18
Figura 4. Distribución geográfica y probables centros de origen de diferentes especies de <i>Brassica</i> (Dixon, 2007) .....	19
Figura 5. Distribución geográfica Nacional de <i>B. juncea</i> (Dixon, 2007).....	20
Figura 6. Obtención del extracto de semillas de mostaza ( <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern) .....	24
Figura 7. Ratón de la cepa C57 Black/ 6J .....	25
Figura 8. Elaboración de pellets .....	26
Figura 9. Laberinto en T .....	29
Figura 10. Lavado de aceite de aguacate .....	33
Figura 11. Procedimiento para la cuantificación de fenoles.....	34
Figura 12. Procedimiento para la cuantificación de flavonoides .....	36
Figura 13. Memoria de trabajo espacial ( <i>Brassica</i> 200 mg/kg).....	38
Figura 14. Memoria de trabajo espacial ( <i>Brassica</i> 400 mg/kg).....	39
Figura 15. Actividad AChE hipocampal ( <i>Brassica</i> 200mg/Kg).....	40
Figura 16. Actividad AChE hipocampal ( <i>Brassica</i> 400mg/Kg).....	41
Figura 17. Estrés oxidante hipocampal (dosis <i>Brassica</i> 200 mg/kg).. ..	42
Figura 18. Estrés oxidante hipocampal (dosis <i>Brassica</i> 400 mg/kg).. ..	43
Figura 19. Curva de calibración para fenoles. ....	44
Figura 20. Curva de calibración para Flavonoides .....	45

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la manera en la que los humanos enferman y mueren se determina por factores biológicos y también por factores sociales, ambientales y psicológicos. Esto resulta del incremento de enfermedades no transmisibles, como las afecciones y trastornos del SNC. Los trastornos del SNC constituyen la cuarta causa de enfermedad asociados a muertes prematuras y calidad de vida negativa, relacionada con la presencia de discapacidad (Medina et al., 2003). Dichos trastornos incluyen padecimientos como la depresión, ansiedad, epilepsia, demencia, esquizofrenia y trastornos del desarrollo durante la infancia (Sandoval & Richard, 2005).

Entre las enfermedades no transmisibles, destaca la demencia. Esta se considera como la tercera patología asociada a la mortandad en personas con edad avanzada, antecedida por la muerte por accidentes cerebrovasculares y el cáncer. Por lo anterior la demencia es un problema de salud pública, con un alto impacto social y económico, que repercuten en la calidad de vida del enfermo y de toda su familia.

En México habitan más de 13 millones de adultos mayores de 60 años. De acuerdo con los datos sobre la prevalencia de la demencia en México, se estimó que en 2014 existían 860,000 personas afectadas, y se previó que 2050 se elevaría a más de 3.5 millones. Esto representa una amenaza significativa para la calidad de vida de los mexicanos. Los factores de riesgo asociados con el desarrollo de demencias en adultos mayores en México son la diabetes y el síndrome metabólico. Por lo que, el impacto de esta enfermedad en los sistemas económico, social y de salud pública será aún más grave. (Gutiérrez- Robledo & Arrieta, 2015).

Actualmente, no existen tratamientos para erradicar la demencia y los disponibles están dirigidos a reducir los síntomas y mejorar la calidad de vida de los pacientes. El tratamiento de elección se basa en la administración de memantina e inhibidores de la AChE. Este fármaco mejora las alteraciones cognitivas que caracterizan a dicha patología; por lo que su capacidad neuroprotectora se ha postulado, a pesar de sus efectos secundarios frecuentes (Young & Howells, 2010). Al respecto, la memantina es un antagonista no competitivo de los receptores de glutamato de tipo ácido N-metil-D-

aspartato (NMDA), por lo que, se postula como un inhibidor de la neurodegeneración inducida por excitotoxicidad.

Actualmente los grupos de investigación, dentro del área de las neurociencias han desarrollado una línea de estudio, para identificar especies de uso tradicional con posible capacidad neuroprotectora. El principal efecto de esas especies parece estar relacionado con su capacidad antiinflamatoria y antioxidante (Jivad & Rabiei, 2014). Entre los fitoquímicos con capacidad neuroprotectora están los glucosinolatos. Dicho grupo, podría tener un efecto neuroprotector, derivado de su capacidad antioxidante, con lo que evitaría la acción de toxinas mitocondriales. Estos compuestos se encuentran en el brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*) y otras crucíferas (Kumar & Khanum, 2012) como *B. juncea*. Esta última se conoce comúnmente como mostaza de la India, es importante en la agricultura y se utiliza comúnmente para la producción de aceite comestible y otros condimentos. Se conocen diversos usos medicinales de sus semillas y hojas (Manohar et al., 2009). Es consumida como verdura en la India y muchos otros países. En México se observa su presencia como arvense en los estados de Veracruz, Estado de México, Chiapas, Oaxaca, Sonora e Hidalgo y se destaca su importancia en nuestro territorio como fitorremediadora en desechos de minas (Rodríguez et al., 2012), culinaria en comunidades rurales como Teopisca Chiapas (Solís-Becerra & Estrada- Lugo, 2014) y en medicina tradicional se describe para tratar infecciones respiratorias (Nepomuceno & Ishiki, 2010).

Respecto a la composición química de la mostaza de la india, las semillas son ricas en glucosinolatos, y en polifenoles diversos, así como otras sustancias estructuralmente diversas con actividades biológicas (Kumar & Andy, 2012). El análisis de información disponible sobre los componentes fitoquímicos bioactivos de *B. juncea* mostró su utilidad en el tratamiento de trastornos metabólicos y de algunos padecimientos del SNC (Kumar & Andy, 2012; Kumar et al., 2011); entre estos destacó su potencial para tratar padecimientos asociados a disfunciones cognitivas, como la demencia.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto neuroprotector del extracto acuoso de *B. juncea* en un modelo de demencia inducido por escopolamina en ratones.

### **2.2 Objetivos Particulares**

- Evaluar el efecto del extracto de *B. juncea* en contra del deterioro cognitivo inducido por escopolamina, en una prueba de memoria de trabajo espacial.
- Evaluar el potencial antioxidante del extracto de *B. juncea* a través de la evaluación de la enzima GSH.
- Evaluar la capacidad del extracto de *B. juncea* como facilitador de la transmisión colinérgica, a través de la evaluación de la inhibición de la enzima AChE cerebral.

## **3. HIPÓTESIS**

Si el extracto de *B. juncea* tiene un efecto neuroprotector, su administración inducirá un mejor desempeño cognitivo en los ratones durante la ejecución de las pruebas cognitivas.

## **4. JUSTIFICACIÓN**

Las semillas y hojas de *B. juncea* tiene aplicaciones en herbolaria (Manohar et al., 2009; Kumar et al., 2011). El análisis de la información sobre sus componentes químicos bioactivos ha permitido sugerir su utilidad en el tratamiento de trastornos metabólicos y de algunos padecimientos del SNC (Bouayed, 2010; Kumar & Andy, 2012) como es el caso del tratamiento de las disfunciones cognitivas. La presunción deriva de las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes de algunos de sus componentes mayoritarios. Las patologías neurodegenerativas, y especialmente la demencia, se asocian con el desarrollo de estrés oxidante e inflamación entre otros factores; por lo que, plantas como del género *Brassica*, podría proveer de compuestos con potencial

terapéutico, capaces de ejercer neuroprotección, en un modelo de demencia inducido con escopolamina. Este modelo permite reproducir el estrés oxidante presente en enfermedades con síntomas demenciales, como su traducción conductual, a través de la generación de deterioro cognitivo. El estudio con *B. juncea* proveerá de información sobre la seguridad de su empleo y ausencia de efectos adversos.

## **5. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **5.1 Panorama mundial de la salud**

El envejecimiento es un proceso natural e irreversible que afecta de forma heterogénea a las células que conforman a los seres vivos incluyendo a las del SNC. Afectando áreas implicadas en el control del comportamiento, las emociones, o coordinación de respuestas sensitivas y motoras. Estas alteraciones son de carácter irreversible, principalmente en personas de la tercera edad, por lo que existe una mayor incidencia de enfermedades de tipo neurodegenerativo en dichos pacientes. Aunado a esto en edades avanzadas, surgen con frecuencia los denominados síndromes geriátricos. Los cuales suelen ser el resultado de la conjunción en el tiempo de diferentes patologías. Todo ello desembocando en cuadros de alteración de la capacidad funcional y de la disminución en la calidad de vida del paciente. Siendo la demencia, uno de los principales síndromes geriátricos que se presentan con mayor incidencia en la actualidad (Beltrán-Campos et al., 2011).

### **5.2 Demencia**

El concepto de demencia ha evolucionado en las últimas décadas. Era definido como un deterioro intelectual global progresivo, concepto que, si bien es correcto, tiende a ser muy impreciso. De acuerdo con la Asociación Americana de Psiquiatría, en su publicación del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (5ª Edición) (DMS-5), el



término demencia es eliminado por lo que se adoptó el término de trastorno neurocognitivo. El trastorno neurocognitivo se caracteriza por un declive lento y progresivo de la función mental, incluida la memoria, el pensamiento, el juicio y la capacidad para aprender. Generalmente los síntomas incluyen la pérdida de memoria, problemas en el uso del lenguaje, desorientación. Con el avance de los síntomas, el sujeto que la padece pierde su independencia funcional, siendo más frecuente en personas mayores de 65 años.

### **5.3 Clasificación de los tipos de demencia**

De acuerdo con DMS-5 los trastornos neurocognitivos se clasifican en dos grupos: mayor y menor, esto con base en criterios de diagnóstico, donde los vectores sintomáticos estudiados son: atención, función ejecutiva, aprendizaje, memoria, lenguaje, funciones visoperceptivas, visoconstructivas y de cognición social que se diferencian en función de la intensidad de los síntomas y su repercusión en la funcionalidad del paciente (Cuadros 1 y 2)

**Cuadro 1. Criterios diagnósticos para el trastorno neurocognitivo menor (DSM 5)**

**A. Evidencia de un declive cognitivo modesto desde un nivel previo de mayor desempeño de uno o más de uno de los dominios cognitivos referidos:**

1. Preocupación del individuo, de un tercero informado o del facultativo con respecto a un declive modesto en las funciones cognitivas.
2. Declive en el desempeño neuropsicológico, implicando un desempeño en los test del rango de una a dos desviaciones estándares por debajo de lo esperado en la evaluación neuropsicológica reglada o ante una clínica equivalente.

**B. Los déficits cognitivos son insuficientes para interferir con la independencia (p. ej., actividades instrumentales de la vida diaria, tareas complejas como manejo de medicamentos o de dinero), pudiendo ser preciso esforzarse más, utilizar estrategias compensatorias o hacer una acomodación para mantener la independencia.**

**C. Los déficits cognitivos no ocurren exclusivamente en el contexto de un *delirium*.**

**D. Los déficits cognitivos no son atribuibles de forma primaria a la presencia de otros trastornos mentales (p. ej., trastorno depresivo mayor, esquizofrenia).**

**Cuadro 2. Criterios diagnósticos para el trastorno neurocognitivo mayor (DSM5)**

**A. Evidencia de un declive cognitivo sustancial desde un nivel previo de mayor desempeño en uno o más de uno de los dominios cognitivos referidos:**

1. Preocupación del individuo, de un tercero informado o del facultativo con respecto a un declive sustancial en las funciones cognitivas.
2. Declive en el desempeño neuropsicológico, implicando un desempeño en los test del rango de dos o más desviaciones estándares por debajo de lo esperado en la evaluación clínica equivalente.

**B. Los déficits cognitivos son suficientes para interferir con la independencia (p. ej., requieren de asistencia para las actividades instrumentales de la vida diaria, tareas complejas como manejo de medicación o de dinero)**

**C. Los déficits cognitivos no ocurren exclusivamente en el contexto de un *delirium***

**D. Los déficits cognitivos no son atribuibles de forma primaria a la presencia de otros trastornos mentales (p. ej., trastorno depresivo mayor, esquizofrenia).**

(López-Álvarez & Agüera-Ortiz, 2015)

Existen subtipos etiológicos de la clasificación de trastornos neurocognitivos en los que se encuentran: la apolipoproteína E4 (ApoE4), la cual está asociada a la herencia; además, también se consideran factores como el sociodemográfico (edad, raza, educación, historia familiar), alteraciones vasculares o metabólicas (hipertensión, hiperlipidemia, diabetes), traumatismos craneoencefálicos, estilos de vida y hábitos (dietas irregulares, obesidad, consumo de tabaco o alcohol)

#### **5.4 Terapéutica dentro de las demencias**

Actualmente no existe tratamiento para prevenir o erradicar a la demencia, pero se dispone de tratamientos que ayudan a mantener el nivel cognitivo (orientación temporal/espacial, praxias, memoria), disminuir los síntomas psiquiátricos (depresión, delirio, alteraciones del sueño), las alteraciones del comportamiento (agitación, conductas disruptivas, deambulación), fomentar la autonomía y mejorar la calidad de vida tanto del paciente como del cuidador (López-Pousa & Garre-Olmo, 2007)

Los fármacos comúnmente empleados en la demencia incluyen a los inhibidores de la acetilcolinesterasa, que evitan la degradación de la acetilcolina, presente en las sinapsis y promueven de esta manera la neurotransmisión colinérgica. Dichos fármacos están relacionados y destinados a mejorar los síntomas cognitivos como el aprendizaje, la memoria y el lenguaje. Otros fármacos como la memantina actúan sobre los niveles del glutamato, como antagonistas, con el fin de evitar daños como la disfunción neuronal y la muerte celular. Este fármaco también tiene efectos sobre la memoria, el lenguaje, la capacidad funcional, los síntomas cognitivos y el comportamiento. Sin embargo, otro tipo de síntomas conductuales y psicológicos deben considerarse; como los que necesitan fármacos antipsicóticos, antidepresivos e hipnóticos para mejorar la agitación, agresividad y ansiedad (López, 2015), como los reconocidos por la FDA capaces de retardar la aparición, avance o ambos del deterioro cognitivo (Cuadro 3).

<b>Cuadro 3. Tratamientos farmacológicos aprobados para retrasar el deterioro cognitivo</b>		
<b>Nombre del fármaco</b>	<b>Mecanismo de acción</b>	<b>Efectos secundarios</b>
<b>Tacrina</b>	Inhibidor reversible de la acetilcolinesterasa	Elevación de transaminasas, náuseas, vómito, diarrea, dispepsia, mialgia, anorexia, ataxia.
<b>Donepezilo</b>	Inhibidor reversible de la acetilcolinesterasa	Nausea, diarrea, insomnio, vómito, calambres, fatiga, anorexia.
<b>Rivastigmina</b>	Inhibe tanto la butirilcolinesterasa como la acetilcolinesterasa	Nausea, vómito, pérdida de peso, anorexia, mareo
<b>Galantamina</b>	Inhibidor reversible de la acetilcolinesterasa	Nausea, vómito, diarrea, anorexia, pérdida de peso
<b>Memantina</b>	Antagonista de los receptores de N-Metil-D-Aspartato	Fatiga, hipertensión, mareo, cefalea, estreñimiento, vómito, dorsalgia, confusión

Es importante recalcar que ninguno de estos fármacos evita ni detiene a la enfermedad, generan efectos adversos que alteran la calidad de vida de los pacientes y se han asociado con la incidencia de accidentes cerebrovasculares e infartos entre otras alteraciones. Esto confirma la importancia de buscar e identificar nuevas medidas y tratamientos para la enfermedad, sin descartar la combinación de tratamientos.

### **5.5 Herbolaria y medicina tradicional en la actualidad**

La herbolaria es la aplicación de la botánica a la medicina; es decir, el uso de plantas con propiedades medicinales contra enfermedades que aquejan al hombre para restablecer su salud. Las plantas a lo largo del tiempo han pasado a formar parte importante de los sistemas de medicina tradicional para mantener la salud e incrementar la calidad de vida del hombre (Mendoza et al., 2002)

Las plantas desarrollan un papel importante en el tratamiento de diversas patologías, fundamentalmente en los países en desarrollo donde alrededor del 80 % de la población acude a este tipo de medicina para satisfacer las necesidades primarias de salud. Si bien los productos de origen vegetal, particularmente las drogas secas y los extractos, pasaron de ocupar un lugar preponderante a un segundo plano, recientemente

han vuelto, principalmente en la Medicina Occidental. Este retorno se ha propiciado por el regreso hacia lo natural, pero también debido al desarrollo científico de los fitomedicamentos y al mayor conocimiento del riesgo-beneficio de los fármacos sintéticos.

De tal manera que los conocimientos etno-médicos se han vuelto un instrumento de información muy potente que permite guiar las investigaciones científicas actuales en la búsqueda de nuevas terapias, ante una elevada diversidad de plantas por explorar, así como la evaluación de sus extractos que contienen diferentes compuestos con actividad biológica, que pueden producir efectos terapéuticos variados; por lo que hoy la evidencia científica está llamada a validar el uso popular por un lado, y por el otro el tipo de investigación que se realiza, haciéndose necesaria la interacción entre disciplinas científicas y tecnológicas dirigidas a abordar aspectos como, la selección de especies vegetales, los modelos experimentales, la preparación de extractos y las dosis a emplear, así como la sustentabilidad y la propagación de las especies de interés.

El análisis de los tratamientos herbolarios con ensayos preclínicos regidos por protocolos aceptados con el fin de ser validados a favor de su prestigio en cuanto a calidad, eficacia, seguridad y estabilidad es primordial. Existen numerosos avances en el conocimiento de los principios activos de las drogas y de sus mecanismos de acción, pero hoy día existe un número importante de drogas vegetales, extractos y preparados en los que se desconocen las características, potencial y naturaleza de los compuestos responsables de sus efectos farmacológicos (Prieto-González, et al., 2004).

## **5.6 Plantas medicinales en el tratamiento y prevención de la demencia**

Alrededor del mundo, las hierbas y especias han sido utilizadas para tratar enfermedades, sus efectos medicinales son atribuidos, a sus metabolitos secundarios que pueden influenciar sistemas en el cuerpo y acciones fisiológicas y metabólicas, que incluyen estimulación del sistema inmune, modulación de las enzimas de detoxificación, reducción de inflamación, efectos antioxidantes, antibacterianos y antivirales.

Actualmente se ha demostrado que las demencias son enfermedades complejas, con mecanismos variados, implicados en su patogénesis; por lo que, su terapia debe dirigirse a objetivos moleculares diferentes. Es por esto que se ha considerado el uso de

extractos herbales ya que se sabe contienen una gran cantidad de compuestos con la hipótesis de actuar sobre múltiples objetivos moleculares de una manera aditiva o incluso sinérgica (Cuadro 4). Pero, se conoce parcialmente cómo interactúan entre sí. La información permite sugerir que la presencia de algunos componentes podría favorecer también la estabilidad del principio activo señalado como el responsable de los efectos protectores en el sistema nervioso, que mitigan, previenen o retrasan los procesos neurodegenerativos (Zhou et al., 2016b). La investigación sobre estos temas es esencial para el desarrollo de terapias, formadas por sustancias que amplifican cada actividad y que carezcan de efectos secundarios dañinos.

<b>Cuadro 4. Plantas reportadas por su uso en la medicina tradicional por sus efectos contra la demencia.</b>		
<b>Planta</b>	<b>Familia</b>	<b>Referencia</b>
<b><i>Acorus calamus</i> L.</b>	Acoraceae	Howes y Houghton, 2003
<b><i>Aframomun melegueta</i> (Roscoe) K. Schum</b>	Zingiberaceae	Fatumbi, 1995
<b><i>Agapanthus africanus</i> (L.) Hoffmanns</b>	Agapanthaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Ammocharis corarica</i> (Ker-Gawl.) Herb.</b>	Amarylidaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Ananas comosus</i> (L.) Merr</b>	Bromeliaceae	Wolters, 1994; Adams et al., 2007
<b><i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels</b>	Apiaceae	Ross, 2001; Howes and Houghton, 2003
<b><i>Angelica</i> sp.</b>	Apiaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Annona senegalensis</i> Pers.</b>	Annonaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Artemisia absinthium</i> L.</b>	Asteraceae	Howes and Houghton, 2003; Adams et al., 2007
<b><i>Asparagus africanus</i> Lam</b>	Asparagaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Asparagus concinnus</i> (Baker) Kies</b>	Asparagaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst</b>	Plantaginaceae	Manyam, 1999
<b><i>Barbieria pinnata</i> (Pers.) Bail</b>	Fabacea	Schultes, 1993, 1994; Adams et al., 2007
<b><i>Platycladus orientalis</i> (L.) Franco</b>	Cupressaceae	Nishiyama et al., 1995; Howes et al., 2003
<b><i>Boophone disticha</i> (L.f.) Herb.</b>	Amaryllidaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Brugmancia x candida</i> Pers</b>	Solanaceae	Gonzalez Ayala, 1994; Adams et al., 2007
<b><i>Bupleurum</i> sp.</b>	Apiaceae	Perry and Howes, 2011

<b><i>Camelia sinensis</i> Kuntze</b>	Theaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Cannabis sativa</i> L.</b>	Cannabaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Carum carvi</i> L.</b>	Apiaceae	Adsersen et al., 2006
<b><i>Caryophyllus spp.</i></b>	Caryophyllaceae	Tabernaemontanus, 1987; Adams et al., 2007
<b><i>Cassia lucens</i> Vog.</b>	Fabaceae	Schultes, 1993, 1994; Adams et al., 2007
<b><i>Celastrus paniculatus</i> Willd.</b>	Celastraceae	Howes and Houghton, 2003
<b><i>Centella asiática</i> (L.) Urb</b>	Apiaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin&amp;Clemants</b>	Amaranthaceae	De Barradas, 1957; CESA, 1992, 1993; Adams et al., 2007
<b><i>Clitoria ternatea</i> L.</b>	Fabaceae	Howes and Houghton, 2003
<b><i>Codonopsis pilutosa</i> (Franch.) Nannf.</b>	Campanulaceae	Howes and Houghton, 2003
<b><i>Coffea arabica</i> L.</b>	Rubiaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Convallaria majalis</i> L.</b>	Convallariaceae	Tabernaemontanus, 1987; Adams et al., 2007
<b><i>Coriandrum sativum</i> L.</b>	Apiaceae	Tabernaemontanus, 1987; Adams et al., 2007
<b><i>Corydalis cava</i> (L.) Schw. et K.</b>	Papaveraceae	Adsersen et al., 2006; Adams et al., 2007
<b><i>Corydalis intermedia</i> (L.) M´erat</b>	Papaveraceae	Adsersen et al., 2006; Adams et al., 2007
<b><i>Corydalis solida</i> (L.) Swartz ssp. laxa</b>	Papaveraceae	Adsersen et al., 2006; Adams et al., 2007
<b><i>Corydalis solida</i> (L.) Swartz ssp. silvenensis</b>	Papaveraceae	Adsersen et al., 2006; Adams et al., 2007
<b><i>Crinum bulbispermun</i> (Burm,f.) Milne- Redh&amp;Schweick</b>	Amaryllidaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Crinum moorei</i> Hook,f</b>	Amaryllidaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Crinum macowanii</i> Baker</b>	Amaryllidaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Crocus sativus</i> L.</b>	Iridaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Curcuma longa</i> L.</b>	Zingiberaceae	Howes and Houghton, 2003; Perry and Howes, 2011
<b><i>Euphrasia nemorosa</i> (Pers.) Wallr.</b>	Scrophulariaceae	Adsersen et al., 2008
<b><i>Tetradium ruticarpum</i> (A. Juss.) T.G. Hartley</b>	Rutaceae	Mantle et al., 2000; Howes and Perry, 2011
<b><i>Ferula gummosa</i> Bolss.</b>	Apiaceae	Tabernaemontanus, 1987; Adams et al., 2007
<b><i>Galanthus woronowii</i> Losinsk</b>	Amaryllidaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Galanthus alpinus</i> Sosn.</b>	Amaryllidaceae	Perry and Howes, 2011

<b><i>Ginkgo biloba</i> L.</b>	Ginkgoaceae	Gurib-Fakim, 2006; Perry and Howes, 2011
<b><i>Glycyrrhiza sp</i></b>	Leguminosae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Huperzia serrate</i> (Thunb.) Trevis</b>	Lycopodiaceae	Howes et al., 2003; Adams et al., 2007; Perry and Howes, 2011
<b><i>Hydrolea glabra</i> Sxhum. And Thonn.</b>	Hydrophilaceae	Fatumbi, 1995; Adams et al., 2007
<b><i>Hypericum perforatum</i> L.</b>	Clusiaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Lactuca sativa</i> L.</b>	Asteraceae	Schweitzer de Palacios, 1994; Adams et al., 2007
<b><i>Lannea schweinfurthii</i> Engl</b>	Anacardiaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Lantana camara</i> L.</b>	Verbenaceae	Müller-Ebeling and Rätsch, 1989; Adams et al., 2007
<b><i>Lavandula angustifolia</i> Miller</b>	Lamiaceae	Adsersen et al., 2006; Perry and Howes, 2011
<b><i>Leucojum aestivum</i> L.</b>	Amaryllidaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Lycoris radiata</i> Herb.</b>	Amaryllidaceae	Howes and Houghton, 2003
<b><i>Magnolia officinalis</i> Rehder and Wilson</b>	Magnoliaceae	Howes and Houghton, 2003
<b><i>Matricaria recutita</i> L.</b>	Asteraceae	Tabernaemontanus, 1987; Adams et al., 2007
<b><i>Medicago sativa</i> L.</b>	Fabaceae	Finkler, 1985; Adams et al., 2007
<b><i>Melissa oficinalis</i> L.</b>	Lamiaceae	Lonicerus, 1679; Mills, 1991; Perry et al., 1998; Mantle et al., 2000; Adsersen et al., 2006; Adams et al., 2007; Perry and Howes, 2011
<b><i>Mentha spicata</i> L.</b>	Lamiaceae	Adsersen et al., 2006
<b><i>Narcissus spp.</i></b>	Amaryllidaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Nicotiana sp.</i></b>	Solanaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Ocium basilicum</i> L.</b>	Lamiaceae	Fuchs, 1543; Sfikas, 1980; Adams et al., 2007
<b><i>Oruganum meiorana</i> Moench</b>	Lamiaceae	Fuchs, 1543; Adams et al., 2007
<b><i>Origanum Vulgare</i> L.</b>	Lamiaceae	Adsersen et al., 2006
<b><i>Paeonia xsuffruticosa</i> Andrews</b>	Paeoniaceae	Mantle et al., 2000
<b><i>Panax ginseng</i> C.A.Mey</b>	Araliaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Paullinia cupana</i> Kunth ex H.B.K</b>	Sapindaceae	Taylor, 1998; Adams et al., 2007
<b><i>Petroselinum crispum</i> (Mil.) Nym.exA.W.Hill</b>	Apiaceae	Adsersen et al., 2006
<b><i>Physostigma venenosa</i> Balf.f</b>	Leguminosae	Mantle et al., 2000
<b><i>Pimpinella anisum</i> L.</b>	Apiaceae	Adsersen et al., 2006



<b><i>Piper methysticum</i> G. Forst</b>	Piperaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Polygala tenuifolia</i> Willd</b>	Polygalaceae	Duke and Ayensu, 1985; Chang et al., 1986; Howes and Houghton, 2003
<b><i>Pteroselinum vulgare</i> (Mill.) Nym. And A.W. Hill</b>	Apiaceae	Adams et al., 2007
<b><i>Rosmarinus officinalis</i> L.</b>	Lamiaceae	Adsersen et al, 2006
<b><i>Ruta graveolens</i> L.</b>	Rutaceae	Adsersen et al., 2006
<b><i>Salvia lavandulifolia</i> Vahl.</b>	Lamiaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Salvia miltiorrhiza</i> Bung</b>	Lamiaceae	Howes and Houghton, 2003
<b><i>Salvia officinalis</i> L.</b>	Lamiaceae	Adams et al., 2007
<b><i>Scadoxus multiflorus</i> (Martyn) Raf</b>	Amaryllidaceae	Stafford et al., 2008
<b><i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merrill and Perry</b>	Myrtaceae	Tabernaemontanus 1987; Adams et al., 2007
<b><i>Tagetes lucida</i> Cav.</b>	Asteraceae	Ortiz de Montellano, 1990; Adams et al., 2007
<b><i>Terminalia chebula</i> Retz</b>	Combretaceae	Misra, 1998; Manyam, 1999; Howes and Houghton, 2003
<b><i>Theobroma cacao</i> L.</b>	Sterculiaceae	Roeder, 1988; Adams et al., 2007
<b><i>Thymus vulgaris</i> L.</b>	Lamiaceae	Adsersen et al., 2006
<b><i>Valeriana officinalis</i> L.</b>	Valerianaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Vinca minor</i> L.</b>	Apocynaceae	Perry and Howes, 2011
<b><i>Vitis vinifera</i> L.</b>	Vitaceae	Perry and Howes, 2011

## 5.7 Estudios preclínicos de plantas con potencial terapéutico en demencias

Los estudios preclínicos han servido como método de tamizaje para el uso de plantas potencialmente eficaces, seguras y para validar científicamente el uso de la medicina popular en estos productos (Cuadro 5). En el caso de la demencia, donde la fisiopatología de la enfermedad es compleja y se desconoce su origen como tal, se reconocen en general algunas alteraciones como lo son la presencia y acumulación de agregados de proteínas, asociado a mutaciones o cambios post traduccionales de las proteínas, como la fosforilación, daño oxidante y/o modificaciones de su estructura. El estudio de los productos naturales ha permitido proponer el control de los daños a las proteínas asociados a la aparición de estados demenciales.

<b>Cuadro 5. Plantas con estudios preclínicos que han demostrado su potencial uso contra la demencia.</b>			
<b>Planta</b>	<b>Compuesto químico</b>	<b>Implicación</b>	<b>Referencia</b>
<b><i>Curcuma Longa</i> L.</b>	Curcumina	Aumenta citoquinina antiinflamatoria IL-4 Reduce niveles de tau y beta-amiloide	Shytle, R.D. et al 2009
<b><i>Myrica cerifa</i> L.</b>	(+)-aR,11S-myricanol, myricetina y myricitrina	Reduce los niveles de tau	Jones, J. et al. 2011
<b><i>Cinnamomun zeylanicum</i> J. Presl</b>	Cinamaldehido	Inhibe la agregación de tau, desestructura los agregados y desestabiliza las hélices formadas por pares de esta proteína	Peterson, D.W. et al 2009
<b><i>Taxus brevifolia</i> Nutt</b>	Paclitaxel	Se comprobó en ratones transgénicos que recupera el transporte rápido axonal y aumenta y estabiliza el número de micro túbulos. Mejora el deterioro motor.	Das, V. y Miller J.H. 2012
<b><i>Rheum palmatum</i> L.</b>	Emodin	Inhibe la formación de hélices por pares de filamentos de proteína tau. Inhibe la	Pickhardt, et al.,2004

		formación de agregados de proteína tau.	
<b>Allium sativum L.</b>	S-alil-cisteina, dialil-disulfuro	Propiedades anti-amiloidogénicas, antiinflamatorias y evitan la formación de agregados tau en ratones.	Chaudan, N.B. 2006
<b>Camellia sinensis (L.) Kuntze</b>	Epigallocatequina 3 galato	Protege contra la toxicidad producida por beta-amiloide, actividad antioxidante, así como regulador positivo de la actividad de alfa-secretasa aumentando los niveles de sAPPalfa, induce la fosforilación de PKC.	Rezai-Zadeh, K. et al 2005
<b>Salvia miltiorrhiza B.</b>	Cryptotanshinona	Antiinflamatorio, antioxidante, regula positivamente la alfa-secretasa, aumenta la actividad y señalización colinérgica.	Mei, Z. et al 2010
<b>Nelumbo nucifera Gaerth</b>	Neferina	Inhibe BACE1, e inhibe colinesterasa en modelos celulares. Antioxidante Antiinflamatoria En modelos de animales inducidos con escopolamina mejora el estado cognitivo.	Jung, H.A. et al., 2010
<b>Panax notoginseng F. H. Chen ex C. Y. Wu&amp;K. M.</b>	Ginsenósido Rg1	Se demostró en estudios en líneas celulares Rg1 que inhibe la actividad de BACE1 y protege de lesiones producidas por beta amiloide	Wang, Y.H. y Du, G.H., 2009
<b>Phellinus linteus Berk, et Curt.</b>	Hispidina	Inhibe BACE 1 de forma no competitiva. Antioxidante Inhibe PKC en su isoforma beta	Park, I.H. et al 2004
<b>Glycyrrhiza glabra L.</b>	2,2',4"-Trihidroxichalcona	Antioxidante Antiinflamatorio Inhibe la enzima BACE1, suprime la ruptura de P de la APP y la formación de la placa beta amiloide en modelo animal.	Zhu, Z., et al., 2010
<b>Vitis vinífera L.</b>	Quercetina	Elimina ROS Antioxidante Inhibe la formación de fibras de beta amiloide en cultivos de hipocampo.	Sabogal-Guáqueta A.M., et al., 2015

<p><b>Pteridofitas</b>  <b>Briofitas</b>  <b>Pinofita</b>  <b>Magnolofita</b></p>	<p>Luteolina</p>	<p>Antioxidante  Antiinflamatorio  Reduce la hiperfosforilación de tau inducida por zinc.  Disminuye la secreción de beta-amiloide  Inhibe la apoptosis de APP y la secreción de beta amiloide.  Inhibe la apoptosis de caspasa reduciendo la generación de ROS intracelulares, aumentando la actividad de SOD y revirtiendo el daño producido en el potencial de membrana mitocondrial</p>	<p>Sawmiller, D., et al., 2014</p>
<p><b><i>Huperizia serrata</i> Trevis.</b></p>	<p>Hupercina A</p>	<p>inhibe factores apoptóticos, como la caspasa-3, Bax y p53 y regular la expresión y secreción de NGF (factor de crecimiento nervioso). Su capacidad neuroprotectora está asociada a la reducción de las placas de amiloide y beta-amiloide oligomérico en el córtex y el hipocampo. Antagoniza los receptores NMDA de glutamato. Devuelve la funcionalidad a la mitocondria restaurando la actividad enzimática de la cadena transportadora de electrones y previniendo la reducción de ATP inducida por el beta-amiloide.</p>	<p>Peng, Y. et al 2006.</p>
<p><b><i>Melissa officinalis</i> L.,  <i>Rosmarinus officinalis</i> L.,  <i>Origanum vulgare</i> L. o  <i>Salvia officinalis</i> L..</b></p>	<p>Ácido rosmarínico</p>	<p>Antioxidante  Antiinflamatorio  Previene significativamente el deterioro cognitivo producido por el beta-amiloide, principalmente actuando en NF-<math>\kappa</math>B y TNF-<math>\alpha</math>. También reduce la hiperfosforilación de tau e inhibe la formación de ROS, la fragmentación del ADN y la activación de la caspasa 3.</p>	<p>Taguchi, R., et al., 2017</p>
<p><b><i>Berberis aquifolium</i> Pursh,  <i>Berberis bulgaris</i> L.,</b></p>	<p>Berberina</p>	<p>Disminuye los niveles de APP y la hiperfosforilación de APP y TAU. Promueve la supervivencia y diferenciación</p>	<p>Hussien, H.M., et al., 2018</p>

<p><b><i>Berberis cristata</i></b>  <b>G. o <i>Hydrastis canadensis</i> L.</b></p>		<p>de células precursoras de hipocampo y la regeneración de nervios dañados del sistema nervioso periférico. Inhibe significativamente la producción de factores inflamatorios como IL-6, COX-2 y iNOS.          Antioxidante, Inhibidora de acetilcolinesterasa y butirilcolinesterasa</p>	
<p><b><i>Olea europea</i> L.</b></p>	<p>Oleuropeina y          Oleocantal</p>	<p>Impiden la agregación del amiloide y contrarrestan su toxicidad. Actúan principalmente sobre el procesamiento de la proteína precursora de amiloide, sobre beta-amiloide, sobre la agregación de tau, neuroinflamación, además de su ya conocida acción como antioxidante.</p>	<p>Rigacci, S.          2015</p>

Cabe destacar que dos de los medicamentos más empleados en el tratamiento de la demencia, la Galantamina y la Rivastigmina derivan de materia vegetal, lo que impulsa el desarrollo de más estudios en la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos derivados de plantas, para el tratamiento de la demencia.

### 5.8 *Brassica juncea* L. Czern

*Brassica juncea* (L.) Czern es conocida como mostaza parda, mostaza China o mostaza de la India. Pertenece a la familia Brassicáceae o Cruciferaes, y se caracteriza por sus hojas ovadas u obovadas, simples y pecioladas; las flores se presentan en inflorescencias racimosas con cuatro sépalos libres y cuatro pétalos de color amarillo, las flores son bisexuales y poseen dos estambres largos y dos estambres cortos. Su fruto se presenta en forma de silicuas glabras y cilíndricas, extendidas a erectas, de 3 a 6 cm de largo. Semillas globulares, de 1.5 a 2 mm de diámetro, castaño oscuro, con la testa finamente reticulada (Figuras 1 a 3).



Figura 1. Flores de *B. juncea*



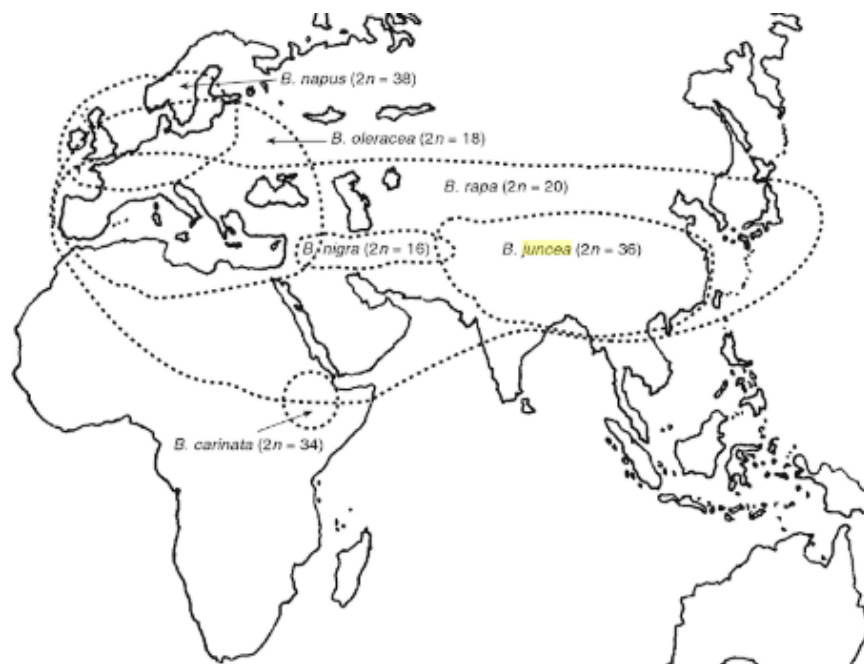
Figura 2. Fruto de *B. juncea*



Figura 3. Semillas de *B. juncea*

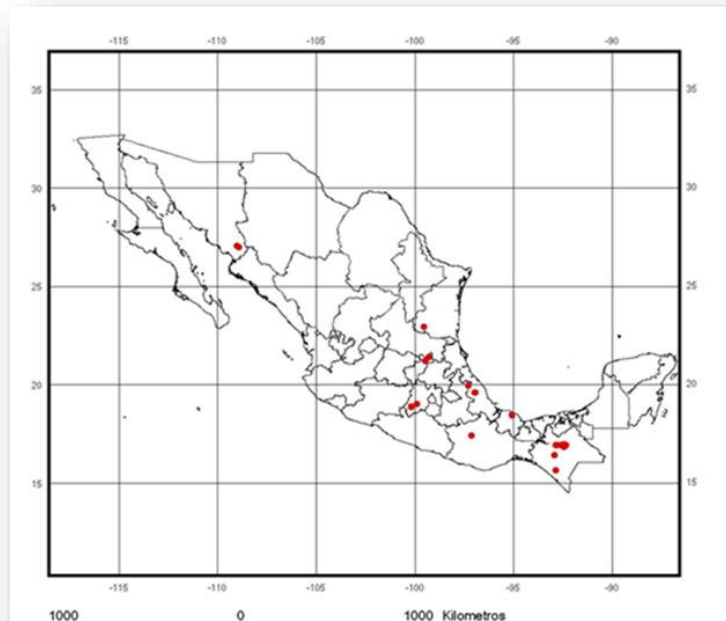
## 5.9 Distribución de *Brassica juncea* (L.) Czern

Esta hierba anual se originó por hibridación natural entre la mostaza negra (*Brassica nigra* (L.) Koch) y la mostaza de nabo (*Brassica rapa* L.) manteniendo completamente el genoma de ambas especies; por lo tanto, es anfidiplóide. La especie se encuentra distribuida en Europa, África, Norteamérica y Asia; pero, varios autores concuerdan en que el oriente de la India, el Cáucaso y China son los centros de origen de dicha especie (Fig. 4) (Fu et al., 2006; Small, 2006; Dixon, 2007).



**Figura 4. Distribución geográfica y probables centros de origen de diferentes especies de *Brassica* (Dixon, 2007)**

En México se ha documentado su presencia en Sonora, San Luis Potosí, Chiapas, Estado de México, Tabasco, Tamaulipas, Oaxaca, Puebla, Querétaro y Veracruz (Fig. 5)



**Figura 5. Distribución geográfica Nacional de *B. juncea* (Dixon, 2007)**

### **5.10 Usos etnobotánicos de *Brassica juncea* (L) Czern.**

*B. juncea* tiene importancia económica y es conocida en la India, por sus propiedades medicinales y valor nutritivo. En general, todas las estructuras de la planta son comestibles y se usan en preparados medicinales. Las semillas de mostaza se han utilizado tradicionalmente para el tratamiento del reumatismo muscular, neuralgias que cursan con inflamación, vómito y el dengue (John, 2011).

En China, la semilla de mostaza es un remedio popular para la artritis, el dolor de pies, el lumbago y tratamiento de tumores; las hojas se usan para preparar sopas para infecciones de la vejiga, inflamación o hemorragia. Además, en Corea, las semillas se utilizan para abscesos, resfriados y trastornos estomacales. También se informa que las semillas son hipoglucemiantes (Thirumalai et al., 2011) antioxidantes (Dubie et al., 2013) antidiabéticas (Grover et al., 2003) ansiolíticas (Yoon et al., 2007) y hepatoprotectoras (John, 2011). Los estudios permiten sugerir que las semillas presentan potencial terapéutico contra varios trastornos. Sin embargo, falta una evaluación definitiva de la



naturaleza química de los constituyentes implicados y los efectos terapéuticos potenciales en las patologías previamente señaladas.

### 5.11 Composición química de *Brassica juncea* (L) Czern.

*B. juncea* produce fitoquímicos bioactivos que incluyen glucósidos, flavonoides, ácidos fenólicos, esteroides, triterpenos, glucosinolatos (GLS), proteínas e hidratos de carbono (Appelqvist et al., 1973; Das et al., 2009; Fabre et al., 1997; Jung et al., 2009; Li et al., 2000; Sang et al., 1984; Yokozawa et al., 2002;).

Los glucosinolatos son compuestos orgánicos que se caracterizan por un grupo funcional derivado de glucosa unido a una oxima sulfonada a través de una cadena lateral que puede ser alifática, aromática o heterocíclica (Chew, 1988). *B. juncea* se caracteriza por poseer glucosinolatos principalmente sinigrina (Carlson et al., 1987; Hill et al., 1987; Sang et al., 1984), p-hidroxibencil glucosinolato, 9 (metil sulfonil) nonil glucosinolato y 8 (metil sulfonil) octil glucosinolato (Fabre et al., 1997).

Los polifenoles más abundantes en *B. juncea* son los flavonoides, dichos compuestos se caracterizan por la presencia de una cadena comprendida por quince carbonos con dos anillos aromáticos conectados por un puente de tres carbonos. Siendo los de mayor importancia dentro de la especie: Quercetina, Kaempferol e Isorhamnetina (Aron & Kennedy, 2008; Crozier et al., 2006; Hollman & Arts, 2000).

Dentro de los flavonoides, las antocianinas son el grupo más importante de pigmentos vegetales, considerados como componentes multifuncionales de los alimentos debido a sus actividades antioxidantes y otras propiedades biológicas benéficas, siendo la antocianina más común, la cianidina (Moreno et al., 2010; Tatsuzawa et al., 2006).

El aceite de la semilla de mostaza presenta principalmente glicéridos: ácidos erúcido, eicosanoico, araquídico, nodecanoico, behénico, oleico y palmítico, además del ácido  $\alpha$ -linolénico y el ácido araquidónico (Joardar & Das, 2007). Así como una alta cantidad de fitoesteroides, donde se encuentran: brasicasterol. Campesterol,  $\beta$ -sitosterol, avenasterol y trazas de  $\Delta^7$ stigmasterol (Li et al., 2000).

*B. juncea* posee compuestos como alil isotiocianato, 3-butenil isotiocianato y fenetil isotiocianato (Yu et al., 2003).

Debido al potencial terapéutico de algunos metabolitos secundarios presentes en la planta de *B. juncea* se ha utilizado en estudios preclínicos, para comprobar su utilidad en la prevención y tratamiento de enfermedades no transmisibles con las que se ha relacionado (Cuadro 6).

**Cuadro 6: Compuestos químicos aislados de *Brassica juncea* (L.) Czern y su potencial terapéutico**

Compuesto aislado	Actividad	Referencia
<b>Glucosinolato</b> <b>Sinigrina</b>	Goitrogénico	Yu et al, 2003; Carlson et al., 1987; Tripathi et al., 2001; Goetz & Schraudolf, 1983; Schreiner et al., 2009.
<b>Isotiocianato</b> <b>Alyl isotiocianato</b> <b>Fenil isotiocianato</b>	Actividad fungicida Actividad antitumoral Antimicrobiano Actividad antioxidante	Mayton et al., 1996; Luciano & Holley, 2009; Kumar et al., 2009; Manesh & Kuttan, 2003. Thejass & Kuttan, 2007.
<b>Compuestos fenólicos</b> <b>(Ácido sinapico,</b> <b>Sinapina)</b>	Ansiofítico Actividad antioxidante Mejora la cognición.	Yoon et al., 2007; Karakida et al., 2007; Zou et al., 2002.
<b>Acidos grasos</b> <b>(Ácido <math>\alpha</math>-linolénico)</b>	Desarrollo de la actividad de astrocitos	Joardar et al., 2007; Chew, 1988.
<b>Glucósidos de Kaempferol</b> <b>(Kaempferol 1-O-<math>\beta</math>-D-glucopiranosil-(1<math>\rightarrow</math>3)-[<math>\beta</math>glucopiranosil-(1<math>\rightarrow</math>6))]-glucopiranosido)</b>	Actividad antioxidante	Jung et al., 2009; Kim et al., 2002.
<b>Otros compuestos flavonoides</b> <b>(Isorhamnetina 3,7-di-O-<math>\beta</math>-D-glucopiranosido)</b>	Efectos antioxidantes	Yokozawa et al., 2002, 2003.
<b>Proteínas</b> <b>Napina</b> <b>Juncina</b>	Antifúngico Antialergénico	Appelqvist et al., 1973; Dasgupta et al., 1995; Jyothi et al., 2007; Ye & Ng, 2009.

## 5.12 Farmacología

Las semillas de *B. juncea* se usan ampliamente en la medicina tradicional del mundo. Existen reportes que mencionan la irritación e inflamación provocada por su aceite, lo que condujo al desarrollo de modelos experimentales dirigidos a la comprensión de los procesos biológicos involucrados en sus mecanismos de acción. De esta manera se demostró su relación con procesos como la vascularización e inflamación neurogénica cutánea. Los glucosinolatos e isotiocianatos derivados de dicha especie, poseen propiedades anticancerígenas (Bhattacharya et al., 2010; Shapiro et al., 1998). La presencia de ácidos grasos poliinsaturados y fitoesteroles, sugiere un potencial protector en contra de daño cardiovascular entre otros beneficios (Cuadro 7).

<b>Cuadro 7. Efectos terapéuticos sugeridos para <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.</b>	
<b>Actividad reportada</b>	<b>Referencias</b>
<b>Anti diabético /Anti hiperglucémico/ Actividad hipoglucémica</b>	Grover et al., 2002; Khan et al., 1995B; Yadav et al., 2004; Grover et al., 2001; 2003.
<b>Actividad ansiolítica</b>	Yoon et al., 2007.
<b>Actividad Inflamatoria</b>	Inoue et al., 1997; Fiorentino et al., 1999; Zhang et al., 2006.
<b>Desarrollo de la actividad en astrocitos</b>	Joardar et al., 2007.
<b>Antioxidante / Barrido de peroxinitrito</b>	Kim et al., 2003; Jung et al., 2009; Yokozawa et al., 2002, 2003; Zou et al., 2002; Khan et al., 1997.
<b>Estudios hematológicos e histológicos</b>	Khan et al., 1995A, Tripathi et al., 2008
<b>Antiaterogenico / perfil lipídico</b>	Khan et al., 1996A,1996B,1997; Jo et al., 1993.
<b>Actividad antimicrobial</b>	Ye & Ng, 2009; Mayton et al., 1996; Luciano & Holley, 2009; Lin et al., 2000; Guan et al., 2008; Li et al., 2000.
<b>Actividad antitumoral</b>	Kumar et al., 2009; Khan et al., 1996b; Manesh & Kuttan, 2003; Thejass & Kuttan, 2007.
<b>Actividad protectora cerebral y cognitiva</b>	Karakida et al., 2007
<b>Alergénico</b>	Jyothi et al., 2007; Monsalve et al., 1993
<b>Defensa contra insectos</b>	Blau et al., 1978; David & Gardiner, 1966; Nault & Styer, 1972; McCloskey & Isman, 1993; Wadleigh & Yu, 1988.
<b>Goitrogenico</b>	Tripathi et al., 2001.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

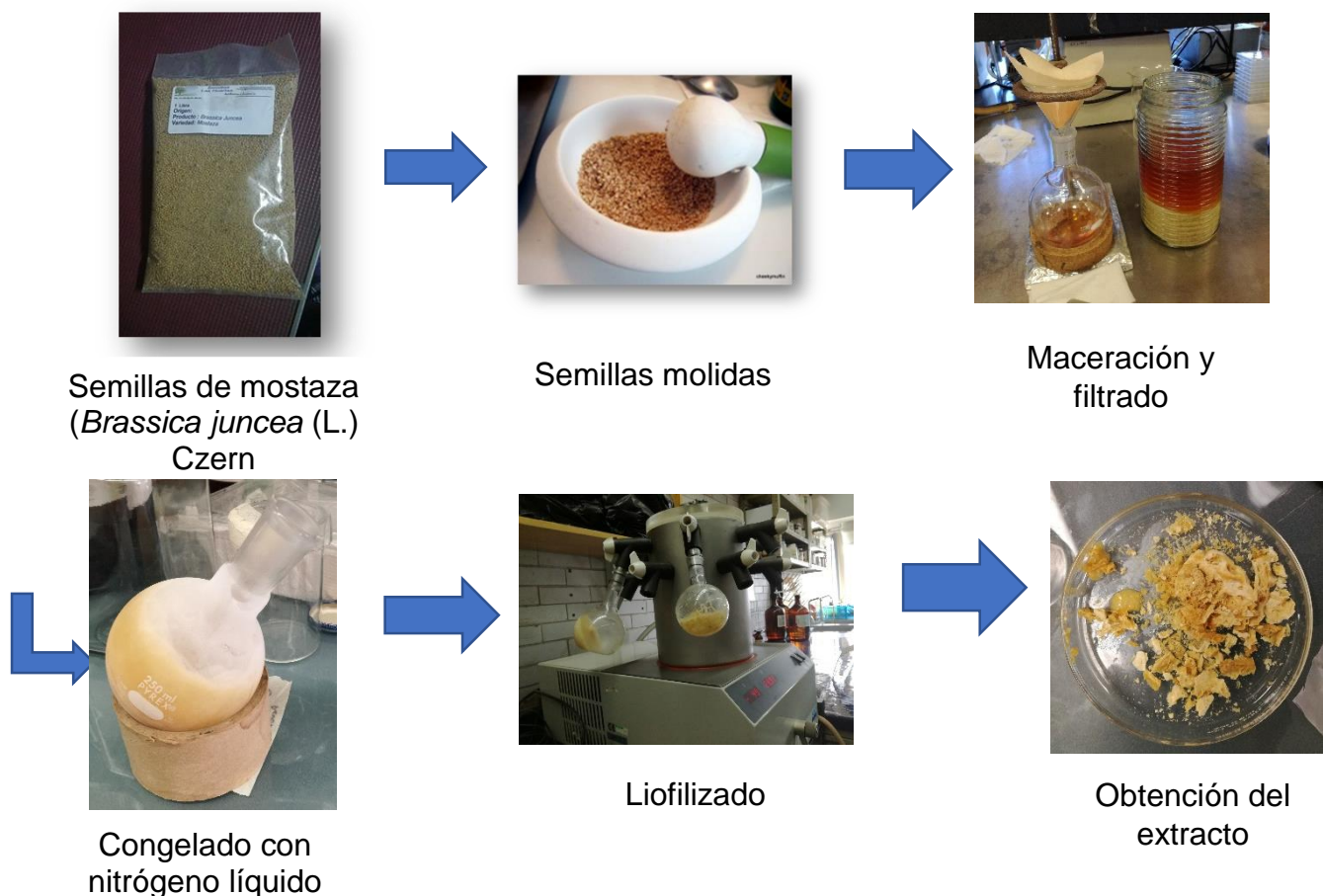
### 6.1 Material vegetal

Semillas de *B. juncea* se adquirieron en “Semillas Las Huertas” que las importa de China.

El aceite de aguacate se utilizó de la marca San Lucas.

### 6.2 Obtención del extracto

Las semillas de *B. juncea* pulverizadas se maceraron durante 24 horas, en proporción de 10 g por 90 ml de agua destilada. El extracto acuoso se separó de los residuos mediante filtración con una manta de cielo e inmediatamente se congeló con nitrógeno líquido para eliminar el agua en un liofilizador (Figura 6)



**Figura 6. Obtención del extracto de semillas de mostaza (*Brassica juncea* (L.) Czern)**

### 6.3 Sujetos

En el estudio se utilizaron 60 ratones macho de la cepa C57/Black 6J (25-30 g de peso), separados aleatoriamente en cajas de acrílico, en grupos de cinco. Los animales tuvieron alimento y agua *ad libitum*, y permanecieron a 22°C constante y fotoperiodo luz: oscuridad 12:12 horas, de acuerdo con lo recomendado por los comités de ética e investigación científica y la NOM-062-ZOO-1999.



**Figura 7. Ratón de la cepa C57 Black/ 6J**

### 6.4 Administración de los tratamientos

El extracto acuoso de mostaza y aceite de aguacate fueron administrados con el alimento de los animales, cada tratamiento fue aleatorio entre los grupos experimentales. El extracto de mostaza administrado fue 200 y 400 mg/kg y 300 mg/kg de aceite de aguacate a cada animal diariamente.

Para esto, el alimento de consumo diario se trituró, se adicionó la cantidad necesaria para alcanzar la dosis de extracto correspondiente en cada caso. La mezcla se hidrató con agua desionizada. La pasta mostró consistencia arenosa pero aglutinante, y se utilizó para formar cilindros similares a los pellets originales. Para lo que se utilizó una jeringa de 20 ml y compresión manual. Los cilindros de alimento se colocaron en bolsas que fueron sumergidas en nitrógeno líquido para mejorar su dureza. Por último, los cilindros del alimento se dejaron secar al aire y temperatura ambiente durante 8 horas mínimo antes de proporcionarlas a los animales. Cada día, el alimento fue retirado y

pesado con el fin de evaluar el consumo diario de cada uno de los ratones, y sustituido por nuevo, para evitar la oxidación de los componentes de los extractos (Figura 8).



**Figura 8.** Elaboración de pellets adicionados con el extracto a evaluar (Extracto de mostaza con 200 o 400 mg/kg y Aceite de aguacate con 300 mg/kg, como control de neuroprotección antioxidante por alimento rico en ácidos grasos)

## 6.5 Diseño experimental

El presente es un estudio de casos y controles, pareado, prospectivo y longitudinal. La administración de los extractos en la dieta fue llevada a cabo durante los 15 días previos a la evaluación cognitiva. Posterior a los primeros 7 días, los ratones recibieron una dosis de escopolamina diaria a una dosis de 1 mg/kg por vía intraperitoneal hasta alcanzar los 15 días. Treinta minutos antes de comenzar las pruebas de laberinto en T (T-maze.), todos los animales recibieron una administración de vehículo (solución salina) o de escopolamina, dependiendo del tratamiento asignado aleatoriamente. Los animales fueron separados en seis grupos experimentales de la siguiente manera:

Control: Alimento normal + solución salina (Vehículo de escopolamina)

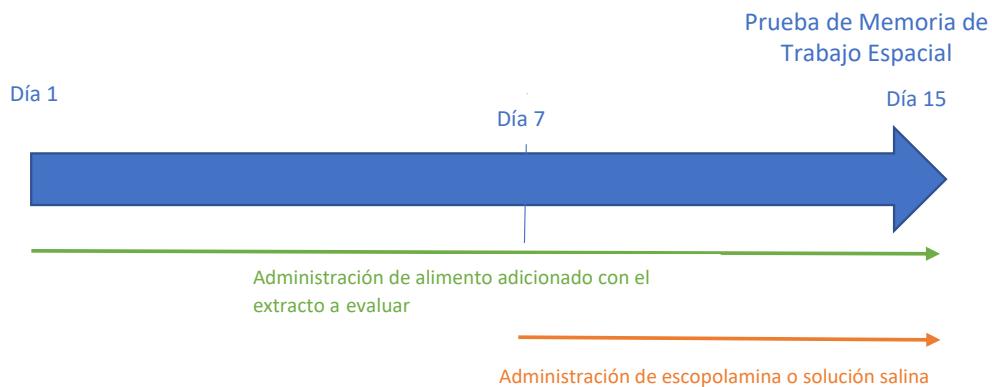
Escopolamina: Alimento normal + escopolamina

*Brassica*: Alimento con extracto de mostaza + sol. salina

*Brassica* + Escopolamina: Alimento con extracto de mostaza + escopolamina

Aguacate: Alimento con aceite de aguacate + Sol. Salina (control positivo de tratamiento)

Aguacate: Alimento con aceite de aguacate + escopolamina (control positivo de potencial antioxidante)



Línea temporal del tratamiento de los animales de los diferentes grupos experimentales. El día 16 se realizó la eutanasia de los animales para la disección del tejido hipocampal.

## 6.6 Cambio ponderal

Durante el desarrollo del estudio, se registraron los cambios en el peso de los animales de manera semanal en cada uno de los grupos experimentales. Esto se realizó para determinar si el tratamiento no afectó el peso de los animales, y corroborar que estos consumieran el alimento normalmente, sin efecto negativo del extracto en el alimento. Es importante mencionar que no se observó diarrea, pérdida de peso, alteraciones de la conducta social o de otra índole como resultado de la ingesta del extracto.

## **6.7 Evaluación de la conducta**

### **6.7.1 Laberinto en T (T- Maze).**

El laberinto en T consiste de una placa basal no reflectante de tres brazos con las mismas dimensiones (30 x 6 x 10 cm), (Columbus Instruments, Baltimore). Dicho laberinto, cuenta con un sistema acoplado a rayos de luz infrarroja y sensores de interrupción de la luz, que permiten el seguimiento y análisis de detección del tipo y cantidad de desplazamiento que los sujetos realizan dentro del laberinto. Consta de tres puertas deslizables de manera manual, que permiten el confinamiento o aislamiento de los animales en cualquiera de los espacios que conforman el equipo.

La prueba se llevó a cabo una vez terminado el tratamiento de cada grupo, comenzando con una prueba de “elección forzada”, seguida de catorce pruebas de elección libre. Cada sujeto comenzó la prueba en la caja de inicio donde se colocó por diez segundos. Posteriormente se le permitió el acceso al laberinto permitiéndole explorar sólo un brazo del laberinto, una vez que el sujeto regresará a la caja de inicio en la que permanecería nuevamente por cinco segundos. Se llevaron a cabo las catorce pruebas libres, donde se le permitió elegir el brazo a explorar. Los sujetos fueron retirados del laberinto tan pronto como las catorce pruebas fueron completadas, o una vez transcurridos 10 min.

Cada ocasión en que el animal visitaba de manera alternativa el brazo opuesto al brazo previamente visitado, se consideraba como una alternancia. Los roedores son animales curiosos y en el caso de los ratones en específico, sumamente activos también. De manera que, cuando un ratón visita un espacio, si recuerda el brazo visitado previamente, su siguiente elección será el brazo contrario. Cada una de estas decisiones alternativas, es considerada como una alternancia.

Los resultados se expresan como el porcentaje de alternancias efectuadas/ total de las alternancias posibles (definida como el número de entradas totales menos uno) multiplicado por cien. Los animales que no completaron la prueba en diez minutos fueron excluidos del análisis, por considerarlos con una conducta exploratoria pobre. La prueba de Laberinto en T se llevó a cabo treinta minutos después de la última administración de



escopolamina. El tiempo requerido para completar las 14 pruebas, también fue registrado (Amico et al., 2007).



**Figura 9.** Laberinto en T (Col. Inst.) El porcentaje de alternancias se obtuvo del cociente de las alternancias efectuadas entre el número total de alternancias posibles multiplicado por cien. Las alternancias posibles = número de entradas totales - 1).

## 6.8 EVALUACIÓN BIOQUÍMICA

Después de la prueba de conducta los animales fueron sacrificados 24 horas después para extraer el hipocampo de los cerebros de los sujetos experimentales, el cual fue congelado con nitrógeno líquido, pesado y conservados a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis.

### 6.8.1 Cuantificación de proteínas

El tejido hipocampal se homogenizó con agua destilada en relación 1:20 volúmenes, mediante sonicación. De este se reservaron  $50\text{ }\mu\text{l}$  para medir la concentración de proteínas. La muestra se diluyó con agua 1:20 ( $10\text{ }\mu\text{l}$  de muestra en  $190\text{ }\mu\text{l}$  de agua desionizada) y se obtuvo una curva con las siguientes diluciones.

**Cuadro 8.** Curva de calibración para la cuantificación de proteínas

<b>Punto</b>	<b>Agua (<math>\mu</math>l)</b>	<b>Albúmina (<math>\mu</math>l)</b>	<b>Concentración (250 <math>\mu</math>g/ml)</b>
1	40	0	0
2	35	5	12.5
3	30	10	25
4	25	15	37.5
5	20	20	50
6	10	30	75
7	0	40	100

**En placa se depositaron**

**Volumen**

40  $\mu$ l de punto de la curva

200  $\mu$ l de mezcla de Lowry

Se deja reposar por 10 min.

20  $\mu$ l de Folin fenol (1:1)

Se deja reposar por 30 min, y posteriormente se lee a una longitud de onda de 550 nm.

**Muestra**

40  $\mu$ l de muestra

200  $\mu$ l de mezcla de Lowry

Se deja reposar por 10 min,

20  $\mu$ l de Folin fenol (1:1)

**6.8.2 Actividad de AChE hipocampal**

Una vez obtenido el tejido (hipocampo), este fue homogeneizado en un buffer de fosfatos (0.1 M, pH=7.4; 100 mg/ml). Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 14,000 rpm durante 15 min. Una vez centrifugadas, se tomaron 15  $\mu$ l del sobrenadante de cada muestra y se colocaron en una placa adicionando a cada pozo 162.5  $\mu$ l de buffer de fosfatos y 6.25  $\mu$ l de DTNB 10 mM pre-incubando por 3 min para poder tomar la primera lectura, una vez tomada ésta lectura se inició la reacción adicionando a cada pozo 6.25  $\mu$ l de yoduro de acetil-tiocolina (100 mM) para nuevamente tomar 5 lecturas de las intensidades derivadas de la acción de la enzima presente, registrada por medio de cambios de absorbancia a 412 nm durante 10 min a intervalos de 1 min en un lector de microplacas de UV/VIS (Modelo Eon, Biotek. USA). Los resultados se expresan en

términos de Unidades Internacionales de Sustrato hidrolizado por minuto por miligramo de tejido.

### 6.8.3 Contenido hipocampal de GSH

Una vez disecado el tejido hipocampal de los cerebros de los ratones, las muestras fueron homogeneizadas en frío con 0.5 ml de HPO<sub>3</sub> (25%), posteriormente fueron agregados 1.875 ml de BF-EDTA (50 μm pH=7). Se reservó 1 ml en tubos eppendorf color ámbar y se procedió a centrifugar a 12,000 rpm durante 15 min a 4 °C.

Posteriormente, en una placa negra, protegida de la luz (tapa cubierta con papel aluminio), se agregaron:

Para la curva:

110 μL de buffer a cada pozo

30 μL de muestra

30 μL de OPA

Para muestras:

145 μL de buffer a cada pozo

15 μL de muestra

15 μL de OPA

La placa se mantuvo a temperatura ambiente y agitó por 15 min Posteriormente, se realizó la lectura de la placa a una longitud de onda de 350 nm de excitación y 420 nm de emisión con una sensibilidad de 90% en un lector de placas de Fluorescencia (FLx800; Biotek Instruments, Inc., USA).

A la par de la preparación de las muestras se construyeron diariamente curvas de calibración:

**Cuadro 9.** Curva de calibración para la cuantificación de GSH

Estándar	Concentración ((μg/ml)	Buffer (μl)	GSH (2Mm) (μl)
1	0	1000	0
2	0.300	940	60
3	0.600	880	120
4	1.2	760	240
5	2.4	520	480
6	4.8	40	960

Los resultados obtenidos se expresan como μmol/mg proteína

## 6.9 Evaluación fitoquímica del extracto

### 6.9.1 Cuantificación de fenoles totales:

La evaluación del contenido total de fenoles de los extractos de mostaza y aceite de aguacate se realizó, mediante el método de Folin-Ciocalteu, por lo que de acuerdo con este método se llevó a cabo la elaboración de una curva con ácido gálico.

La curva se preparó a partir de la solución de ácido gálico 0,1 mg/ml:

**Cuadro 10.** Curva de calibración para la detección de fenoles

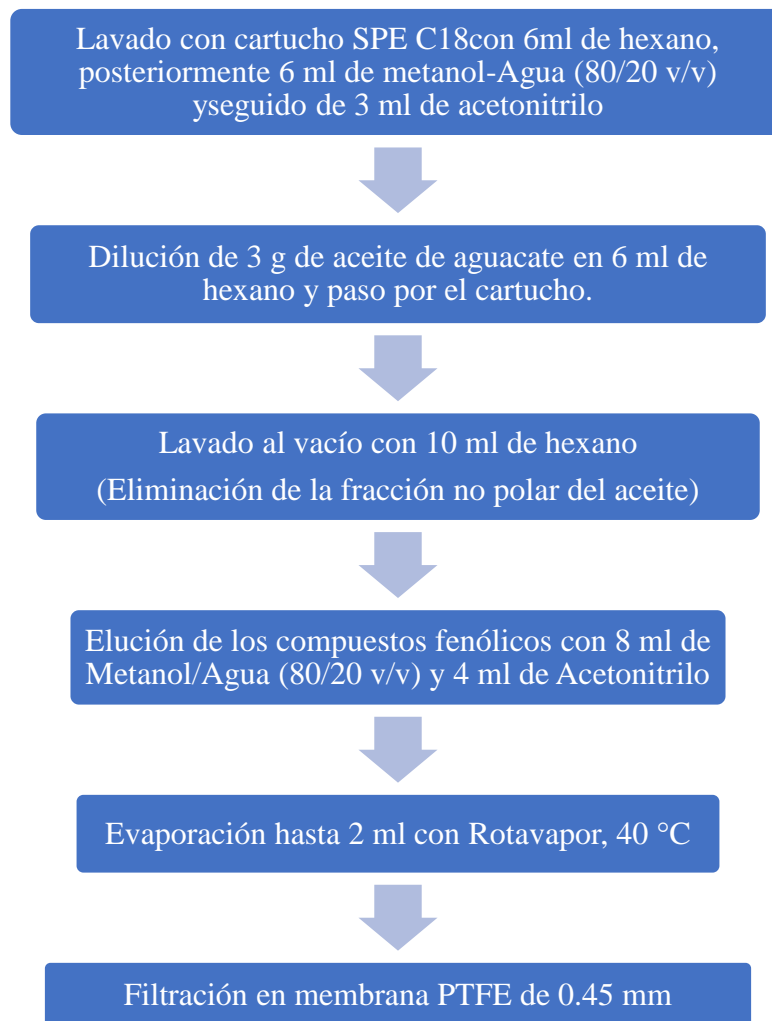
	<b>Vol. de ácido gálico (0.1mg/ml) (µl)</b>	<b>Concentración final (µg/ml)</b>	<b>Vol. de agua desionizada (µl)</b>
<b>Blanco</b>	0	0	500
<b>1</b>	20	32	480
<b>2</b>	40	64	460
<b>3</b>	80	128	420
<b>4</b>	160	256	340
<b>5</b>	320	512	180

#### 6.9.1.1 Preparación de la muestra de *Brassica juncea* (L.) Czern

Se pesaron 5 mg del extracto acuoso de *B. juncea* y se disolvieron en 1 ml de agua, para la correcta dilución de la muestra, estas fueron sometidas al fenómeno de cavitación mediante un ultrasonido (sonda ultrasónica) por un minuto, cada muestra era de reciente preparación. A partir de esta solución se adecuaron tres diferentes concentraciones con 10, 20 y 40 µl, llevando cada uno a 1 ml con agua des ionizada para su posterior lectura.

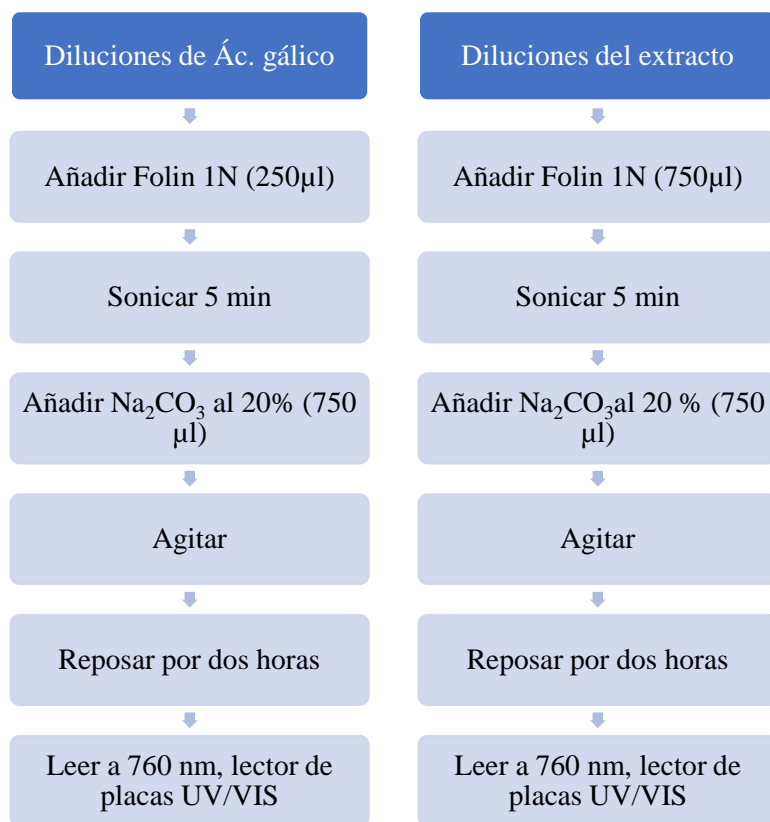
#### 6.9.1.2 Preparación de la muestra de aceite de aguacate

Para la cuantificación de fenoles en el aceite de aguacate se procedió a realizar antes un lavado de dicho extracto con la finalidad de remover la fracción no polar y así poder detectar a los fenoles, por lo que se procedió al siguiente lavado. A partir de esta solución se prepararon tres concentraciones con 10, 20 y 40 µl, llevando cada uno a 1 ml con agua desionizada para su lectura.



**Figura 10.** Lavado de aceite de aguacate, para la detección de fenoles y flavonoides

Una vez preparadas las soluciones y el extracto se procedió de la siguiente manera:



**Figura 11.** Procedimiento para la cuantificación de fenoles totales del extracto de mostaza y aceite de aguacate.

### 6.9.2 Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales del extracto acuoso y el aceite de aguacate, se determinó por el método de Kumazawa, Hamasaka & Nakayama, 2004, que se basa en la formación de complejos con cloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ). La curva de calibración correspondiente se hizo utilizando como estándar el flavonoide Rutina (Cuadro 11).

**Cuadro 11.** Curva de calibración para la detección de flavonoides

<b>Estándar</b>	<b>Vol. De Rutina (0.1 mg/ml) (µl)</b>	<b>Concentración final (µg/ml)</b>	<b>Vol. De agua desionizada (µl)</b>
<b>Blanco</b>	0	0	1000
<b>1</b>	25	25	975
<b>2</b>	50	50	950
<b>3</b>	100	100	900
<b>4</b>	200	200	800
<b>5</b>	400	400	600
<b>6</b>	800	800	200

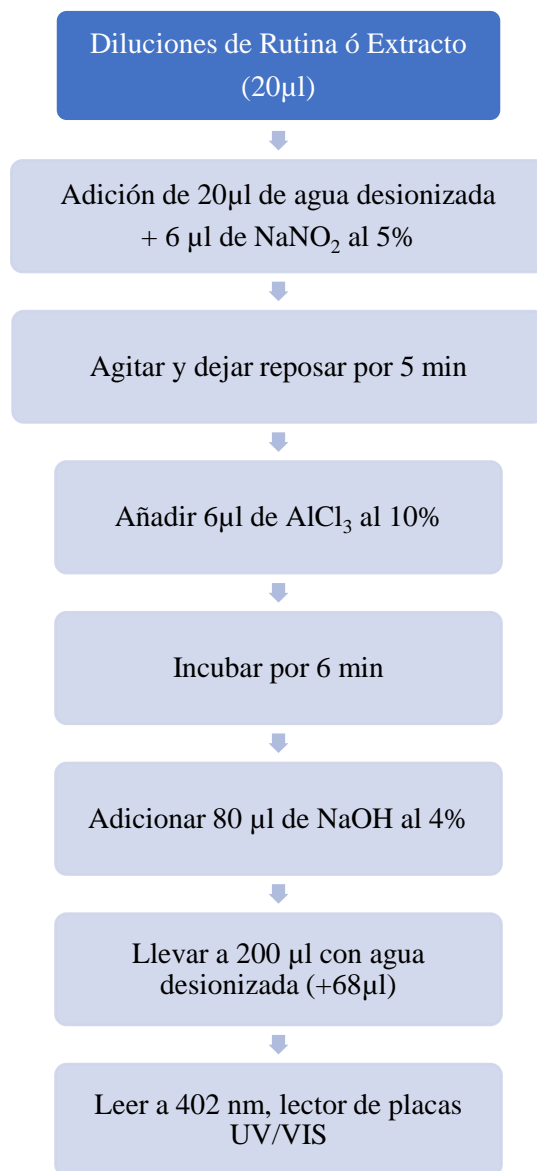
#### **6.9.2.1 Preparación de la muestra de *Brassica juncea* (L.) Czern**

Se pesaron 5, 10 y 20 mg del extracto acuoso de *B. juncea* y se diluyeron en 1 ml de agua destilada, para la correcta dilución de la muestra, esta fue sometida al fenómeno de cavitación mediante un ultrasonido (sonda ultrasónica) por un minuto, cada muestra fue de reciente preparación.

#### **6.9.2.2 Preparación de la muestra de Aceite de aguacate**

Para la cuantificación de fenoles en el aceite de aguacate se procedió a realizar antes un lavado de dicho extracto con la finalidad de remover la fracción no polar y así poder detectar los compuestos fenólicos, por lo que se procedió al siguiente lavado. A partir de esta solución se prepararon 3 diferentes concentraciones tomando 10, 20 y 40 µl, llevando cada uno a 1 ml con agua des ionizada para su posterior lectura.

Una vez preparadas las diluciones del extracto se realizó lo siguiente:



**Figura 12.** Procedimiento para la cuantificación de Flavonoides totales del extracto de mostaza y aceite de aguacate.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Rendimiento del extracto

El rendimiento del extracto obtenido de la semilla se le calculó a partir del peso seco. Por cada 200 g de semilla se obtuvieron 13.6 g de extracto, equivalente a un rendimiento de 6.58 %.



## 7.2 Cambio ponderal

Se registró el cambio ponderal de ratones macho C57 Black/6J durante dos semanas de los tratamientos (Cuadro 12). Los cambios en el peso de los animales no fueron significativos respecto al control. Por lo que se consideró viable emplear la primera dosis para determinar su potencial terapéutico

**Cuadro 12.** Cambios ponderales a lo largo de dos semanas para estimar la ingesta de alimento

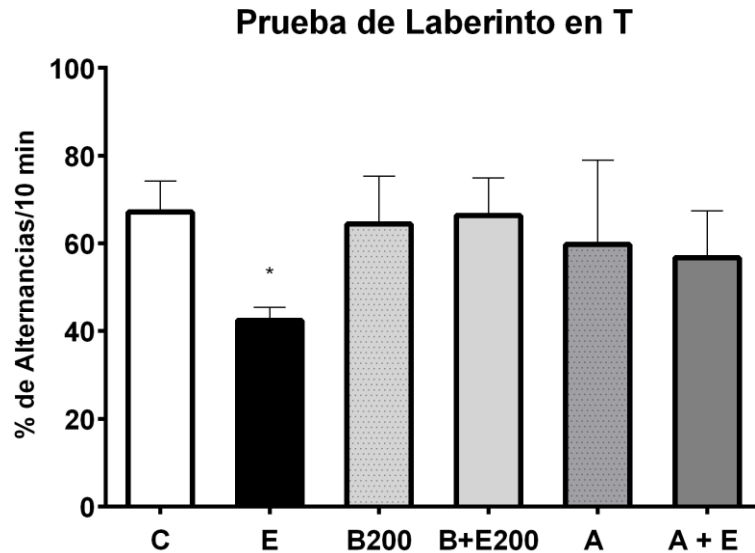
Tratamiento	Peso basal	Peso 1° semana de ingesta	Peso 2° semana de ingesta
Control	23.79 ± 1.02	26.56 ± 0.91	28.68 ± 0.61
Brassica	25.82 ± 0.47	28.74 ± 0.62	28.58 ± 0.75
Escopolamina	25.58 ± 0.93	27.79 ± 0.68	28.63 ± 0.44
Brassica + Escopolamina	26.27 ± 0.63	27.96 ± 0.63	28.9 ± 0.73

## 7.3 Prueba de memoria espacial en el Laberinto en T

Los cambios en el porcentaje de alternancias para cada tratamiento mostraron que con escopolamina reprodujo el efecto de disfunción cognitiva en los animales (Fig. 13), similar a lo reportado previamente (Deacon & Rawlis, 2006). Esto se observó a través de la reducción en el porcentaje de alternancias con respecto al grupo control ( $p=0.0004$ ;  $f=68.22$ ).

### 7.3.1 Efecto de la dosis de 200 mg/kg en la respuesta cognitiva

La dosis de 200 mg/kg de *Brassica* demostró ser capaz de bloquear el efecto deletéreo de la cognición de los animales expuestos al modelo de escopolamina ( $p<0.05$  vs control;  $f=0.31$ ). Este efecto no mostró ser estadísticamente diferente al ejecutado por la administración del aceite de aguacate, ni del grupo control.

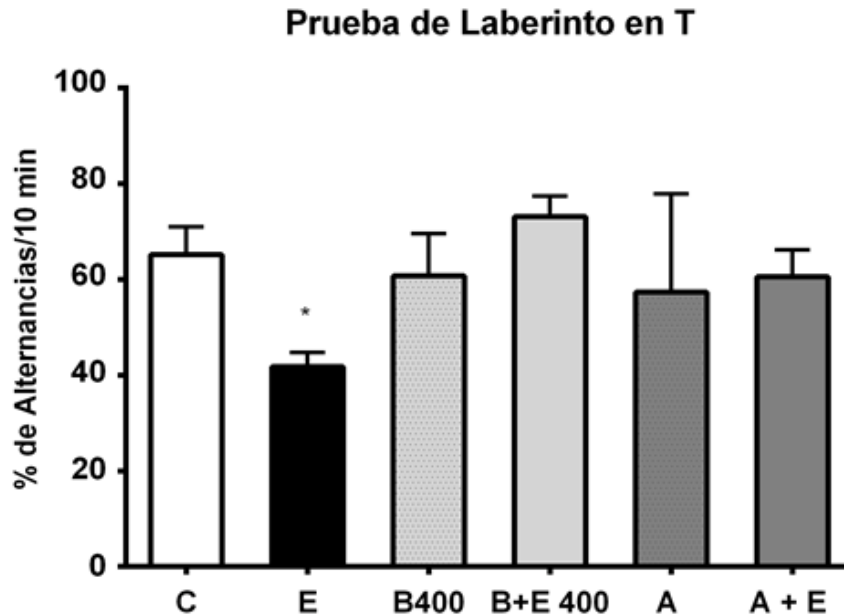


**Figura 13. Memoria de trabajo espacial (*Brassica* 200 mg/kg).** Las barras representan el promedio  $\pm$  S.E.M obtenido de las 14 pruebas de “libre elección” de los animales expuestos a los diferentes tratamientos experimentales. C= control, E= escopolamina (1 mg/kg, i.p.), B= *Brassica* (200 mg/kg, p.o.), B + E200= *Brassica* (200 mg/kg) y escopolamina (1mg/Kg, i.p.), A= aguacate (300 mg/kg), A + E= aguacate (300 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg, i.p.). n= 8 a 10 experimentos independientes. ANDEVA de dos vías; \*p<0.05 en comparación con el grupo control.

### 7.3.2 Efecto de la dosis de 400 mg/kg en la respuesta cognitiva

Debido a la protección observada previamente, se decidió realizar una evaluación similar, con una dosis mayor (400 mg/kg, i.p.). La aplicación del extracto se llevó a cabo empleando el esquema de administración previamente citado, revelando un efecto similar al observado con la dosis anterior, siendo este nuevamente no estadísticamente diferente con respecto al grupo control ( $p= 0.462$ ;  $f=0.657$ ).

En este ensayo se, demostró que la administración de una dosis de 400 mg/kg del extracto de *Brassica* no generó un beneficio mayor al obtenido como resultado de la administración de la dosis de 200 mg/kg.



**Figura 14. Memoria de trabajo espacial (*Brassica* 400 mg/kg).** Las barras representan el promedio  $\pm$  S.E.M obtenido de las 14 pruebas de “libre elección” de los animales expuestos a los diferentes tratamientos experimentales. C=control, E= escopolamina (1 mg/kg, i.p.), B= *Brassica* (400 mg/kg, p.o.), B + E400= *Brassica* (400 mg/kg) y escopolamina (1 mg/kg, i.p.), A= aguacate (300 mg/kg), A + E= aguacate (300 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg, i.p.). n= 8 a 10 experimentos independientes. ANDEVA de dos vías; \*p<0.05 respecto al grupo Control.

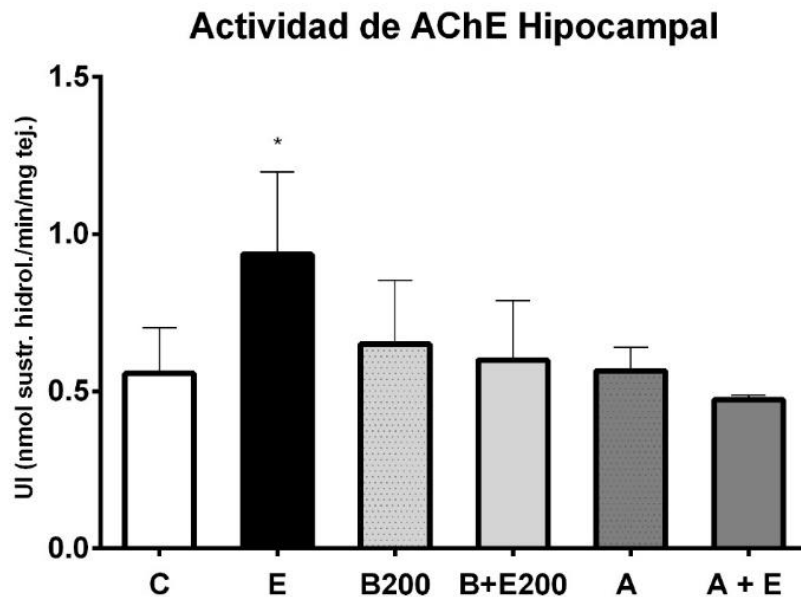
#### 7.4 Evaluación de la actividad de AChE hipocampal

Los resultados muestran que la administración de escopolamina, afectó el desempeño de los sujetos en la prueba de memoria de trabajo ( $p=0.0052$  ;  $f= 15.95$ ). Este efecto se asocia a las disfunciones que la escopolamina ejecuta sobre el sistema colinérgico, al actuar como antagonista muscarínico especialmente sobre las neuronas del prosencéfalo basal e hipocampo. El sistema colinérgico está implicado de manera importante en el desarrollo de los procesos cognitivos. En la actualidad, el empleo de inhibidores de AChE son la terapia más empleada para el tratamiento del deterioro cognitivo en los estados demenciales, por lo que decidimos determinar si la neuroprotección ejecutada por nuestro extracto, se encontraba relacionada a la inhibición de la actividad de la AChE.

Los resultados obtenidos evidencian que la actividad de AChE hipocampal para ambas dosis empleadas de *Brassica* mantuvieron la actividad de la AChE con respecto al grupo control, lo que reproduce los resultados previamente reportados (Tota et al., 2012).

#### 7.4.1 AChE en la dosis de 200 mg/kg.

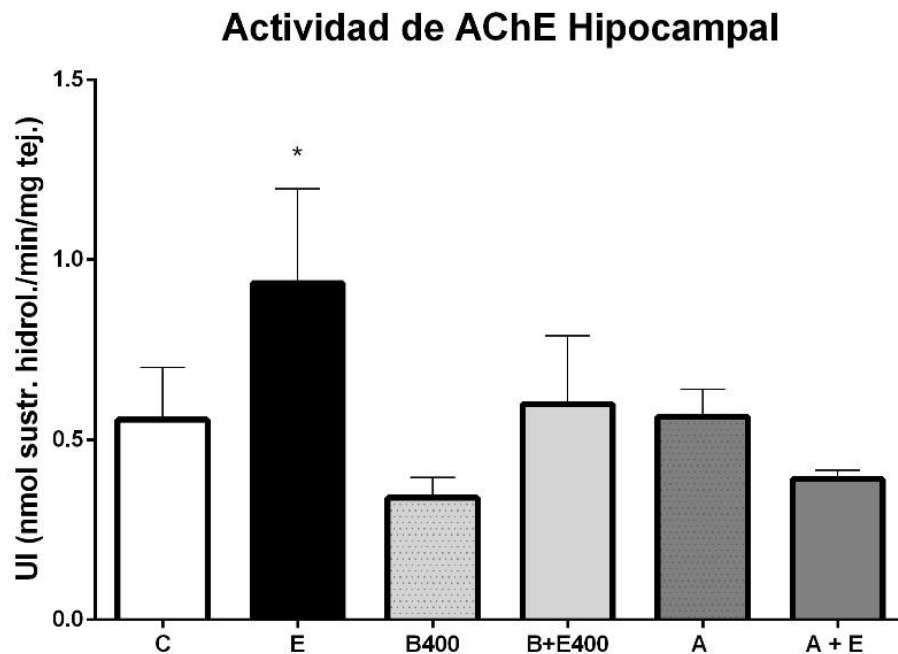
Por su parte, tanto la administración de *Brassica* como la de aguacate, tuvieron efectos anticolinesterásicos en aquellos animales expuestos al modelo de escopolamina (B + E200 y A + E; ( $p=0.0012$ ;  $f=11.27$ ), manteniendo niveles no significativamente diferentes a los observados para el grupo control ( $p=0.1584$ ;  $f=2.108$ ; Fig. 15).



**Figura 15. Actividad AChE hipocampal (*Brassica* 200mg/Kg).** Las barras representan el promedio ( $\pm$  S.E.M) de la actividad de la AChE en unidades Internacionales de AChE obtenido del tejido hipocampal de ratones de la cepa C57 Black/ 6J machos (25-30g), expuestos a los diferentes tratamientos experimentales. C= control, E= escopolamina (1 mg/kg, i.p.), B= *Brassica* (200 mg/kg, p.o.), B + E200= *Brassica* (200 mg/kg) y escopolamina (1 mg/kg, i.p.), A= aguacate (300 mg/kg), A + E= aguacate (300 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg, i.p.).  $n=8$  a 10 experimentos independientes. ANDEVA de dos vías; \* $p<0.05$  respecto al grupo control.

#### 7.4.2 AChE en la dosis de 400 mg/kg.

Los resultados obtenidos a partir de la administración de una dosis de 400 mg/kg del extracto de *Brassica*, reproducen los resultados obtenidos para la dosis de 200 mg/kg, no mostrando beneficios adicionales con el incremento de la dosis en los grupos experimentales expuestos al modelo de demencia (B + E400 y A + E;  $p= 0.003$ ;  $f= 14.92$ ; Fig. 16).



**Figura 16. Actividad AChE hipocampal (*Brassica* 400mg/Kg).** Las barras representan el promedio ( $\pm$  S.E.M) de la actividad de la AChE en unidades Internacionales de AChE obtenido del tejido hipocampal de ratones de la cepa C57 Black machos (25-30g), expuestos a los diferentes tratamientos experimentales. C= control, E= escopolamina (1 mg/kg, i.p.), B= *Brassica* (400 mg/kg, p.o.), B + E400= *Brassica* (400 mg/kg) y escopolamina (1 mg/kg, i.p.), A= aguacate (300 mg/kg), A + E= aguacate (300 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg, i.p.).  $n= 8$  a 10 experimentos independientes. ANDEVA de dos vías; \* $p<0.05$  respecto al grupo control.

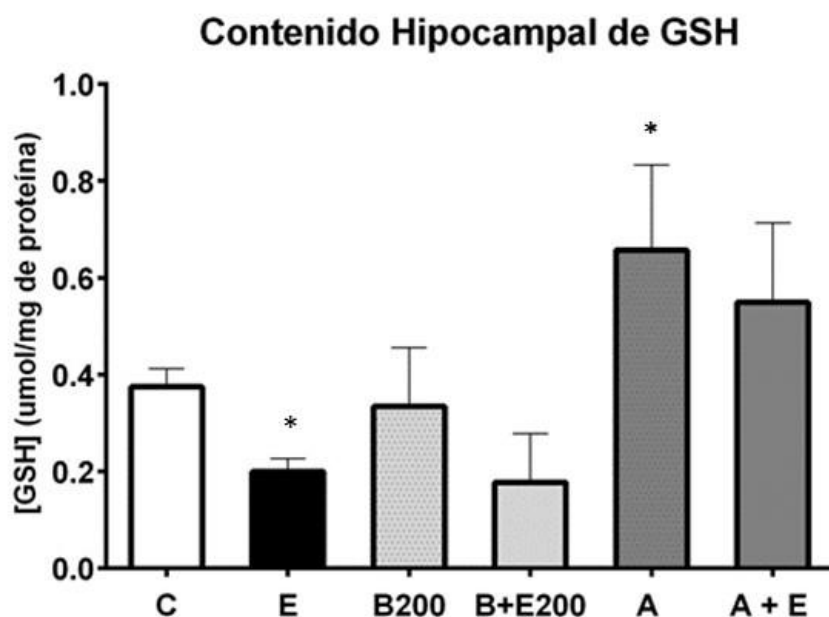
#### 7.5 Contenido hipocampal de GSH.

De manera similar con la administración de inhibidores de la AChE, el manejo clínico de los pacientes con demencia sugiere la administración conjunta de tratamientos con sustancias con poder antioxidante. Dado que estudios previos demostraron que extractos de hojas de *Brassica* poseen elementos con potencial antioxidante ácidos fenólicos y

flavonoides, se decidió determinar si el extracto a partir de semillas poseía efectivamente dichos compuestos, y si éstos eran capaces de contrarrestar el efecto prooxidante de la escopolamina.

### 7.5.1 Valoración antioxidante de *Brassica* a la dosis de 200 mg/kg

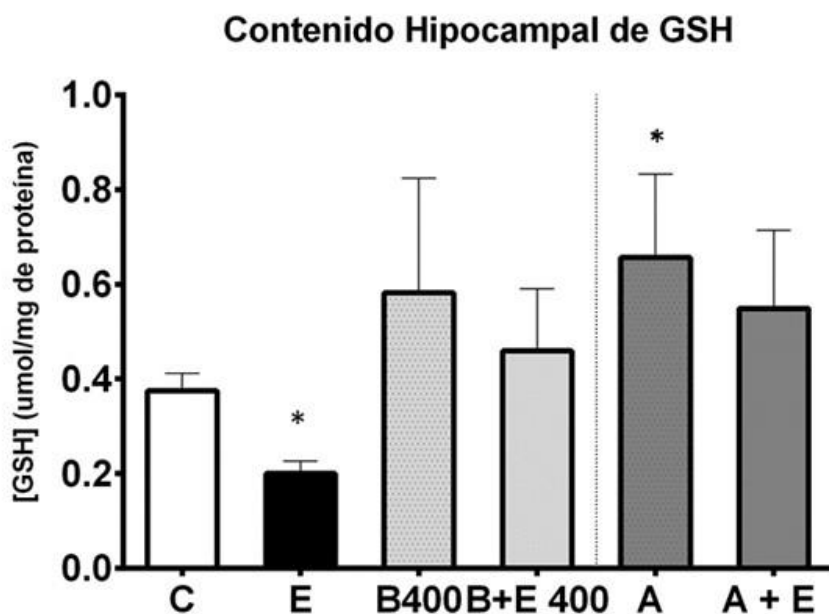
Los resultados obtenidos a partir de la evaluación del poder antioxidante del extracto de *Brassica* para la dosis de 200 mg/kg en relación al contenido de GSH hipocampal no muestran diferencias estadísticamente significativas de la administración de extracto en los animales expuestos al modelo de demencia por escopolamina ( $p=0.0459$ ;  $f= 6.980$ ). El potencial antioxidante derivado de la administración del aceite de aguacate mostró tener un potencial protector estadísticamente significativo, acorde con estudios previos que refieren su habilidad para contrarrestar el ataque por toxinas prooxidantes (Rengifo, et al., 2015).



**Figura 17. Estrés oxidante hipocampal (dosis *Brassica* 200 mg/kg).** Las barras representan el promedio ( $\pm$  S.E.M) del contenido de GSH hipocampal ( $\mu\text{mol/mg}$  proteína) de ratones de la cepa C57 Black machos (25-30 g), expuestos a los diferentes tratamientos experimentales. C= control, E= escopolamina (1 mg/kg, i.p.), B= *Brassica* (200 mg/kg, p.o.), B + E200= *Brassica* (200 mg/kg) y escopolamina (1 mg/kg, i.p.), A= aguacate (300 mg/kg), A + E= aguacate (300 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg, i.p.).  $n= 8$  a 10 experimentos independientes. ANDEVA de dos vías; \* $p < 0.05$  respecto al grupo control.

### 7.5.2 Valoración antioxidante de *Brassica* a la dosis de 400 mg/kg

A diferencia de los resultados obtenidos para la dosis menor, cuando se aplicaron 400 mg/kg, dicha concentración fue capaz de modificar el efecto prooxidante de la escopolamina (B + E400 vs E), no mostrando diferencias con respecto al grupo control ( $p=0.0097$ ;  $f=16.52$ ).



**Figura 18. Estrés oxidante hipocampal (dosis *Brassica* 400 mg/kg).** Las barras representan el promedio ( $\pm$  S.E.M) del contenido de GSH hipocampal ( $\mu\text{mol/mg}$  proteína) de ratones de la cepa C57 Black machos (25-30g), expuestos a los diferentes tratamientos experimentales. C= control, E= escopolamina (1 mg/kg, i.p.), B= *Brassica* (400 mg/kg, p.o.), B + E400= *Brassica* (400 mg/kg) y escopolamina (1 mg/kg, i.p.), A= aguacate (300 mg/kg), A + E= aguacate (300 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg, i.p.).  $n= 8$  a 10 experimentos independientes. ANDEVA de dos vías; \* $p<0.05$  respecto al grupo control.

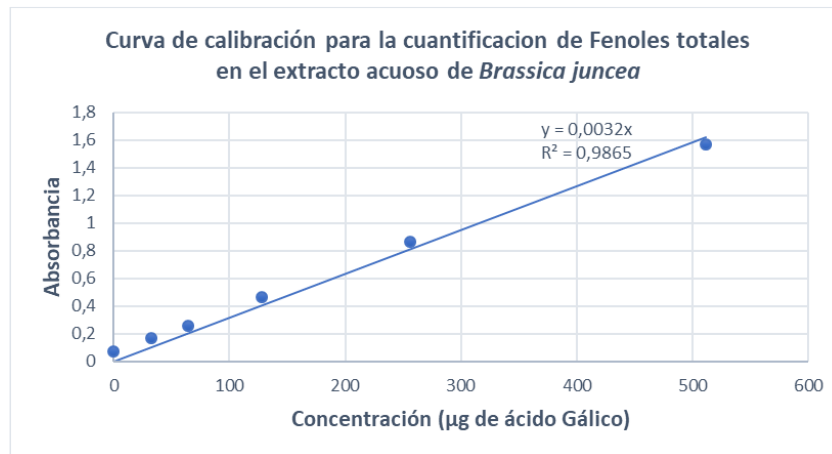
### 7.6 Cuantificación de Fenoles totales

La concentración de fenoles totales se determinó para cada extracto que se obtuvo, con la intención de verificar el contenido de fenoles y asegurar una concentración constante

de los mismos en todos los experimentos, de esta manera, se logró comprobar su estabilidad con respecto al tiempo y las condiciones climáticas o de otra índole (temporadas distintas del año, diferencias en la calidad de las semillas, etc) en que el proceso fue llevado a cabo. Los resultados se expresan en mg de fenoles totales por gramo, tanto para la semilla de *B. juncea*, como para el caso del aceite de aguacate. Para este fin, se realizaron curvas de calibración a diario con ácido gálico como estandar en concentraciones definidas como a continuación se detalla:

**Cuadro 13.** Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales

	Volumen de ácido gálico (0.1 mg/ml)	Concentración final de ácido gálico (µg/ml)
0	0 µl	0
1	20 µl	32
2	40 µl	64
3	80 µl	128
4	160 µl	256
5	320 µl	512



**Figura 19.** Curva de calibración para fenoles.

Una vez interpolados los datos en la curva de calibración, los resultados mostraron un nivel de variación para las evaluaciones, con intervalos de confianza que oscilan en un límite inferior de 263 mg y un límite superior de 384 mg para el extracto de mostaza, mientras que el intervalo de confianza para el aceite de aguacate tuvo un límite inferior de 4.49 mg y un límite superior de 5.35 mg.



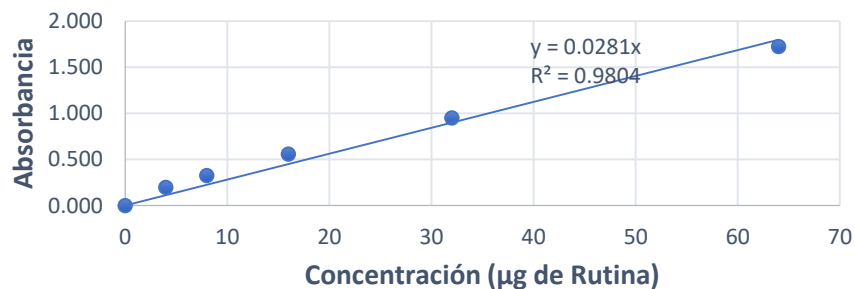
## 7.7 Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se cuantificó diariamente en el extracto. En este caso se usaron concentraciones conocidas de rutina como estándar. También se evaluaron diferentes condiciones experimentales, etapas del año y lotes de semillas.

**Cuadro 14.** Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales

	Volumen de Rutina (0.1 mg/ml)	Concentración final de Rutina ( $\mu\text{g/ml}$ )
0	0 $\mu\text{l}$	0
1	10 $\mu\text{l}$	4
2	20 $\mu\text{l}$	8
3	40 $\mu\text{l}$	16
4	80 $\mu\text{l}$	32
5	160 $\mu\text{l}$	64

Curva de calibración para la cuantificación de Flavonoides totales en el extracto acuoso de *Brassica juncea*



**Figura 20.** Curva de calibración para Flavonoides

Los resultados se expresan en unidades de miligramos de flavonoides totales por gramo de semilla de *B. juncea*, así como por gramo de aceite de aguacate, obteniendo un intervalo de confianza con un límite inferior de 105 mg y un límite superior de 185 mg para el extracto de mostaza, y un intervalo de confianza con un límite inferior de 1.05 mg y un límite superior de 1.96 mg para el aceite de aguacate.

## 8. DISCUSIÓN

Los resultados en esta investigación reproducen los reportes previos citados en la literatura, en los que se observa disminución significativa en el porcentaje de alternancias en los ratones bajo tratamiento con escopolamina, en comparación con los ratones control (Floodab & Cherkinab. 1986).

El hallazgo más relevante derivado de esta tesis estudio, es precisamente que los animales administrados con *B. juncea* tuvieron un mejor desempeño durante la prueba cognitiva, estadísticamente significativa en comparación con los ratones administrados con escopolamina, los cuales disminuyen en un 17,2% con respecto al control ( $p < 0.05$ ;  $f = 68.22$ ). Siendo la dosis mayor de *B. juncea* (400 mg/kg), la que demostró los mejores resultados incrementando 10% la actividad con respecto al control ( $p < 0.05$ ;  $f = 5.46$ ). Los resultados similares a los hallados en el tratamiento con el control positivo de neuroprotección (aceite de aguacate, 300 mg/kg el cual sólo varió en un 3.5 % con respecto al control ( $p < 0.05$ ;  $f = 0.734$ )).

La evaluación de la actividad de acetilcolinesterasa, enzima responsable de la terminación de la transmisión colinérgica por la acetilcolina mostró una interesante participación en dicha respuesta. La acetilcolina es un neurotransmisor que posee implicaciones directas sobre los procesos del aprendizaje y la memoria (Wang et al., 2006; Tota et al., 2012a). Su disfunción es pieza clave en el desarrollo de los síntomas que acompañan a la demencia de tipo Alzheimer, por lo que los inhibidores de acetilcolinesterasa en la actualidad son clínicamente ampliamente utilizados para el tratamiento sintomático de las enfermedades que cursan con demencia (Jazayeri, et al., 2014). El deterioro de la memoria inducido por escopolamina se asocia a un aumento significativo de la actividad de AChE (Roa, et al., 2013), así como con el incremento en los niveles de estrés oxidante y en especial con la reducción del contenido cerebral de GSH (Martínez-Sámano, et al., 2011).

En esta tesis, se ratifica el aumento de la actividad de la AChE en el hipocampo inducida por la escopolamina quien aumentó la actividad en 68 % con respecto al grupo control ( $p < 0.05$ ;  $f = 15.95$ ), pero se observa una disminución significativa por efecto de la administración de los extractos tanto de *B. juncea*, así como del aceite de aguacate. El

potencial de *B. juncea* como inhibidor de la AChE, mostró un efecto dosis dependiente disminuyendo la actividad de AChE en 16% para la dosis de 200 mg/kg con respecto al control ( $p < 0.05$ ;  $f = 1.87$ ) y en 39 % para la dosis de 400 mg/kg con respecto del control ( $p < 0.05$ ;  $f = 18.14$ ). Inclusive, tuvo un mejor efecto al derivado de la administración del aceite de aguacate (control positivo de neuroprotección) quien se mantuvo 1,5 % por arriba del grupo control ( $p < 0.05$ ;  $f = 0.03$ ), lo que se asocia directamente a la protección de los cerebros de los animales en contra del efecto amnésico inducido por la escopolamina, determinado a través de la prueba de laberinto en T.

Otros estudios preclínicos han proporcionado evidencia de la participación del estrés oxidante en las patogénesis de las demencias. Fue por esto que se decidió explorar los niveles hipocampales de GSH, como marcador del estado *redox* endógeno.

De esta manera, se observó que los ratones tratados con escopolamina presentaron una disminución significativa en los niveles de GSH hipocampal del 38.9 % con respecto al control ( $p < 0.05$ ;  $f = 55.12$ ), lo que indica un elevado índice de estrés oxidante. Asimismo, los grupos experimentales bajo tratamiento con *B. juncea* revelaron que únicamente fue efectiva en contra del estrés oxidante, la mayor dosis empleada (400 mg/kg) la cual se mantuvo con 55.3 % por arriba del grupo control ( $p < 0.005$ ;  $f = 4.84$ ), de manera similar a lo observado para el control positivo (aceite de aguacate 300 mg/kg) que presentó un aumento del 75.2% con respecto del control ( $p < 0.05$ ;  $f = 16.60$ ), reconocido protector con gran poder antioxidante.

Actualmente, son pocos los estudios relacionados al uso de *B. juncea* en la medicina tradicional. A este respecto, se ha reportado su efecto hipoglucémico (Thirumalai, et al., 2011), administrando en solución vía oral.

Esta investigación es el primer reporte de la administración oral de *B. juncea* a roedores en el alimento, lo que reproduce la principal vía de administración en los humanos, ya que es ingerida como condimento. Entre los principales usos de *B. juncea*, dirigidos al tratamiento de afecciones del SNC, destacan su empleo en contra de los trastornos cognitivos asociados con la diabetes derivados del déficit colinérgico (Kumar et al., 2013), su actividad ansiolítica (Kumar et al., 2013) y su efecto antinociceptivo y

antihiper glucémico (Rahmatullah et al., 2010). Sin embargo, todos ellos emplearon extractos en metanol de las hojas. Con este estudio, contribuimos al conocimiento del empleo de extractos acuosos de las semillas de *B. juncea* como tratamientos alternativos en contra de trastornos del SNC.

Algunos compuestos extraíbles de *B. juncea* pueden contribuir al control de los procesos bioquímicos asociados al desarrollo de la demencia. Entre ellos destacan el kaempferol, extraído de esta mostaza con efecto antioxidante (Jung et al., 2009) y al ácido sinápico, que elimina al peroxinitrito (Zou et al., 2002). Los resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoides evidencian la presencia de una cantidad mayor de los primeros con un intervalo de 26.3 a 38.4 % por gramo de semilla, los cuales se han estudiado ampliamente y son una de las principales clases de polifenoles, que se encuentran frecuentemente en alimentos como las bayas (Mattila et al., 2006), las nueces (Grosso & Estruch, 2016) el café y el té (Crozier, 2009) y los granos integrales (Van Hung, 2016) y de los que se han demostrado sus propiedades antioxidantes. Sin embargo, en los últimos años, el interés del efecto neuroprotector de los compuestos fenólicos se ha observado con frecuencia, y se reconoce su importante papel anti-Alzheimer y de mejora de la cognición (Szwajgier et al.2018). Además, su potencial como inhibidores de la AChE y la BChE, incluida la relación estructura-actividad, así como su potencial inhibitorio en la formación de fibrillas de péptido  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ). Relacionándolos considerablemente como una fuente de prevención y su posible uso ante el tratamiento de la mejora cognitiva (Szwajgier et al.2018). En el caso de los flavonoides, se detectaron en menor concentración con un intervalo de 10.5 a 18.5 % por gramo de semilla. Los flavonoides son considerados como los fitoquímicos más comunes, con una amplia gama de efectos farmacológicos (Braga et al. 2018). Estos metabolitos son reconocidos además como potentes antioxidantes, “atrapadores” de radicales libres con capacidad de quelar metales (Li et al., 2012). En algunas ocasiones, se les atribuye funciones anticolinesterasa (Adedayo, 2015) y propiedades antiinflamatorias (Ashafaq, 2012). Su potencial procognitivo, se ha propuesto principalmente debido a su capacidad como anti-amiloidogénicos (Matzusaki, 2008; Nabavi, 2015).

Ya que los flavonoides son capaces de cruzar la barrera hematoencefálica (Elbaz et al. 2016), podrían ser responsables de los efectos antioxidantes de algunos tratamientos basados en la administración de extractos naturales como es el caso particular de la *B. juncea*.

*B. juncea* contiene una gran variedad de principios activos que podrían contribuir mediante un sinergismo y acciones coadyuvantes a la neuroprotección en contra de afecciones del SNC con implicaciones cognitivas, entre ellas al tratamiento de la demencia. Se reitera la importancia de continuar estos estudios, con la finalidad de conocer el mecanismo de acción que deriva en la neuroprotección ejecutada por la administración de suplementos de extractos de *B. juncea* en la dieta, contra el desarrollo de la demencia.

## **9 CONCLUSIONES**

Los resultados muestran por primera ocasión que:

1. La administración de un extracto acuoso derivado de semillas de *B. juncea* es capaz de ejercer un efecto protector en contra de la disfunción cognitiva inducida por escopolamina a ratones de la cepa C57 Black/ 6J, evaluada a través de una prueba de memoria de trabajo espacial (T Maze).
2. El efecto procognitivo, podría ser ejercido a través de la capacidad anticolinesterásica y antioxidante del extracto, sobre todo cuando éste es administrado en la dosis mayor empleada en este estudio (400 mg/kg, i.p.).
3. El extracto fue estable y no mostró efectos secundarios o alteración en la ganancia de peso de los animales bajo tratamiento con *B. juncea*.
4. La actividad neuroprotectora de *B. juncea* podría deberse a la presencia de constituyentes de tipo fenólico, entre ellos ácidos fenólicos y flavonoides.

### **Perspectivas:**

Tomando en consideración los resultados del presente trabajo, se plantean las siguientes recomendaciones:

- Realizar la identificación, separación y purificación de los principios activos presentes en el extracto de *B. juncea*, tomando en cuenta no solo a aquellos de tipo fenólico (flavonoides y ácidos fenólicos), sino también enfocarse en compuestos azufrados como lo son los glucosinolatos.
- Evaluar la actividad del extracto de *B. juncea* sobre la citotoxicidad a causa del neurotransmisor glutamato, ya que se sabe, actúa sobre diversos receptores, tal es el caso de los receptores de tipo NMDA, quienes se encuentran asociados a los procesos de aprendizaje y memoria.

## 10. LITERATURA CITADA

1. Adedayo B., Oboh G., Oyeleye S., Ejakpovi I. I., Boligon A. A., Athayde M. L. Blanching alters the phenolic constituents and in vitro antioxidant and anticholinesterases properties of fireweed (*Crassocephalum crepidioides*). *Journal of Taibah University Medical Sciences*. 10 (4):419–426. 2015.
2. Aron P.M., Kennedy J.A. Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity. *Molecular Nutrition & Food Research*. 52(1):79-104. 2008
3. Ashafaq M, Raza SS, Khan MM, Ahmad A, Javed H, Ahmad ME, Tabassum R, Islam F, Siddiqui MS, Safhi MM, Islam F. Catechin hydrate ameliorates redox imbalance and limits inflammatory response in focal cerebral ischemia. *Neurochemical Research*. 37(8):1747-60. 2012
4. Appelqvist L.A., Ohlson R., Sprague M.A. Rapeseed: Cultivation, Composition, Processing and Utilization. *Soil Science*. 116 (6): 453. 1973.
5. Beltrán-Campos V., Padilla-Gómez E., Palma L., Aguilar-Vázquez A., y Díaz-Cintra S. Bases neurobiológicas del envejecimiento neuronal. *Revista Digital Universitaria*. 12 (3): 1067-6079.2011.
6. Blau P.A., Feeny P., Contardo L., Robson D.S. Allylglucosinolate and Herbivorous Caterpillars: A Contrast in Toxicity and Tolerance. *Science*. 200(4347): 1296-1298. 1978.
7. Braga, R., Coimbra, T., Coimbra, T., Gonçalves, R., Gama, M., Martins, E., Wilton, A., de Oliveira, A., Rodrigues, F., Marcelino, A., Ferro, T., Quintans, L., Guedes, R. Flavonoids as Therapeutic Agents in Alzheimer's and Parkinson's

Diseases: A Systematic Review of Preclinical Evidences. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018. 2018.

8. Carlson D.G., Daxenbichler M.E., Van Etten C.H., Kwolek W.F., William P.H. Glucosinolates in crucifer vegetables: broccoli, Brussels sprouts, cauliflower, collard, kale, mustard greens and kohlrabi. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 112 (1): 173-178. 1987.
9. Chew F.S. Biological effects of glucosinolates. In: *Biologically active natural products: potential use in agriculture*. H.G. Cutler (Ed.), American Chemical Society, Washington, USA: 155-181. 1988.
10. Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*. 26(8):1001-43. 2009
11. Crozier, A., Clifford, M., Ashihara, H. *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Blackwell Publishing. 2006.
12. Dasgupta J., Dasgupta S., Ghosh S., Roy B., Mandal R.K. Deduced amino acid sequence of 2S storage protein from Brassica species and their structural features. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*. 32 (6): 378-384. 1995.
13. David W.A.L., Gardiner B.O.C. Mustard oil glycosides as feeding stimulants for *Pieris brassicae* larvae in a semisynthetic diet. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 9: 247-255. 1966.
14. Dixon G. Vegetable brassicas and related crucifers. *Crop Production Science in Horticulture*. 14: 30-33. 2007.
15. Elbaz A, Carcaillon L, Kab S, Moisan F. Epidemiology of Parkinson's disease. *Revue Neurologique (Paris)*. 172(1):14-26. 2016
16. Fiorentino P.M., Cairns B.E., Hu J.W. Development of inflammation after application of mustard oil or glutamate to the rat temporomandibular joint. *Archives of Oral Biology*. 44 (1): 27-32. 1999.
17. Floodab J. & Cherkinab A. Scopolamine effects on memory retention in mice: A model of dementia. *Behavioral and Neural Biology*. 45(2):169-184. 1986
18. Fu J., Zhang M. Qi X. Genetic diversity of traditional Chinese mustard crops *Brassica juncea* as revealed by phenotypic differences and RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 53: 1513-1519. 2006.

19. Grosso G. & Estruch R. Nut consumption and age-related disease. *Maturitas*. 84():11-6. 2016
20. Grover J.K., Vats V., Rathi S.S., Dawar R. Traditional Indian antidiabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozotocin induced diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 76 (3): 233-238. 2001.
21. Grover J.K., Yadav S., Vats V. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Brassica juncea* diet and their effect on hepatic glycogen content and the key enzymes of carbohydrate metabolism. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 241 (1- 2): 95-101. 2002.
22. Grover J.K., Yadav S.P., Vats V. Effect of feeding *Murraya koeingii* and *Brassica juncea* diet kidney functions and glucose levels in streptozotocin diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology* 85 (1): 1-5. 2003.
23. Guan Y., Ramalingam S., Nagegowda D., Taylor P.W., Chye M.L. *Brassica juncea chitinase* BjCHI1 inhibits growth of fungal phytopathogens and agglutinates Gram-negative bacteria. *Journal of Experimental Botany*. 59 (12): 3475-3484. 2008
24. Gutiérrez-Robledo L.M., Arrieta-Cruz I. Demencias en México. La necesidad de un plan de acción. *Gaceta Médica de México*. 151:667-73. 2015
25. Hussien H.M., Abd-Elmegied A., Ghareeb D.A., Hafez H.S., Ahmed H.E.A., El-Moneam N.A.. Neuroprotective effect of berberine against environmental heavy metals-induced neurotoxicity and Alzheimer's-like disease in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 111: 432-444. 2018.
26. Inoue H., Asaka T., Nagata N., Koshihara Y. Mechanism of mustard oil induced skin inflammation in mice. *European Journal of Pharmacology*. 333 (2-3): 231-240. 1997.
27. Jazayeri B., A,anlou A., Ghanadian N., Pasalar P., Amanlou M. A preliminary investigation of anticholinesterase activity of some Iranian medicinal plants commonly used in traditional medicine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22:17. 2014
28. Joardar A., Das S. Effect of fatty acids isolated from edible oils like mustard, linseed or coconut on astrocytes maturation. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 27 (8): 973-983. 2007.



29. Jung H. A., Woo J. J., Jung M. J., Hwang G-S. , Choi J. S. Kaempferol Glycosides with Antioxidant Activity from *Brassica juncea*. Archives of Pharmacal Research. 32 (10): 1379-1384. 2009.
30. Jung H.A., Jin S.E., Choi R.J., Kim D.H., Kim Y.S., Ryu J.H., Kim D.W., Son Y.K., Park J.J., Choi J.S. Anti-amnesic activity of neferine with antioxidant and anti-inflammatory capacities, as well as inhibition of ChEs and BACE1. Life Sciences. 87 (13-14): 420-430. 2010.
31. Jung H.A., Woo J.J., Jung M.J., Hwang G.S., Choi J.S. Kaempferol glycosides with antioxidant activity from *Brassica juncea*. Archives of Pharmacal Research. 32 (10): 1379-1384. 2009.
32. Jyothi T.C., Sinha S., Singh S.A., Surolia A., Appu Rao A.G. Napin from *Brassica juncea*: thermodynamic and structural analysis of stability. Biochimica et Biophysica Acta. 1774 (7): 907-919. 2007.
33. Kumazawa S., Hamasaka T., Nakayama T., Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. Food Chemistry 84(3):329-339. 2004
34. Khan B.A., Abraham A., Leelamma S. Anti-oxidant effects of curry leaf, *Murraya koenigii* and mustard seeds, *Brassica juncea* in rats fed with high fat diet. Indian Journal of Experimental Biology. 35 (2): 148-150. 1997.
35. Khan B.A., Abraham A., Leelamma S. Biochemical response in rats to the addition of curry leaf (*Murraya koenigii*) and mustard seeds (*Brassica juncea*) to the diet. Plant Foods for Human Nutrition. 49 (4): 295-299. 1996.
36. Khan B.A., Abraham A., Leelamma S. Haematological and histological studies after Curry leaf *Murraya koenigii* and mustard (*Brassica juncea*) feeding in rats. The Indian Journal of Medical Research. 102: 184-186. 1995.
37. Khan B.A., Abraham A., Leelamma S. Hypoglycemic action of *Murraya koenigii* (curry leaf) and *Brassica juncea* (mustard): Mechanism of action. Indian Journal of Biochemistry & Biophysics. 32 (2): 106-108. 1995.
38. Khan B.A., Abraham A., Leelamma S. *Murraya koenigii* and *Brassica juncea* alterations on lipid profile in 1-2 dimethyl hydrazine induced colon carcinogenesis. Investigational New Drugs. 14(4):365-369. 1996.
39. Kumar A., D'Souza S.S., Tickoo S., Salimath B.P., Singh H.B. Antiangiogenic and proapoptotic activities of allyl isothiocyanate inhibit ascites tumor growth in vivo. Integrative Cancer Therapies. 8(1): 75-87. 2009

40. Kumar G.P., Khanum F. Neuroprotective Potential of Phytochemicals. *Pharmacognosy Reviews*. 6 (12): 81-90. 2012.
41. Kumar S., Andy A. Health promoting bioactive phytochemicals from *Brassica*. *International Food Research Journal*. 19: 141–52. 2012
42. Kumar T. A., Sunder Ch. S., Vikas Kumar. Anxiolytic-like activity of leaf extract of traditionally used Indian-Mustard (*Brassica juncea*) in diabetic rats *Scientific Research and Essays*. 7(13):1385-1392. 2012.
43. Kumar T.A. , Sunder Ch. S. , Kumar V.. Beneficial effects of *Brassica juncea* on cognitive functions in rats. *JPB*. 51: 1304-1310. 2013.
44. Kumar V., Thakur A.K., Barothia N.D., Chatterjee S.S. Therapeutic potentials of *Brassica juncea*: An overview. *Pharmaceutical Biology*. 51 (10): 1304-1310. 2011.
45. Li J. K., Jiang Z. T., Li R., Tan J. Investigation of antioxidant activities and free radical scavenging of flavonoids in leaves of *Polygonum multiflorum* Thumb. *Chinese Journal*. 2:69–74. 2012
46. Li J., Ho C.T., Li H., Tao H., Tao L. Separation of sterols and triterpene alcohols from unsaponifiable fractions of three plant seed oils. *Journal of Food Lipids*. 7 (1): 11-20. 2000.
47. Li Q., Eigenbrode .SD., Stringam G.R., Thiagarajah M.R. Feeding and growth of *Plutella xylostella* and *Spodoptera eridania* on *Brassica juncea* with varying glucosinolate concentrations and myrosinase activities. *Journal of Chemical Ecology*. 26 (10): 2401-2419. 2000.
48. Lin C.M., Preston J.F. , Wei C.I. Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. *Journal of Food Protection*. 63 (6): 727-734. 2000
49. López-Álvarez J., Agüera-Ortiz L. Nuevos criterios diagnósticos de la demencia y la enfermedad de Alzheimer: una visión desde la psicogeriatría. *Psicogeriatría*. 5 (1): 3-14. 2015.
50. López O., Tratamiento farmacológico de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. *Archivos de Medicina Interna*. 37(1):61-67. 2015.

51. Luciano F.B., Holley R.A. Enzymatic inhibition by allyl isothiocyanate and factors affecting its antimicrobial action against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology*. 131 (2-3): 240-245. 2009.
52. Manohar P.R., Pushpan R., Rohini S. Mustard and its uses in Ayurveda. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 8: 400–404. 2009.
53. Manual diagnóstico y estadístico de trastornos mentales. American Psychological Association. 2016. 5° Edición.
54. Mattila P, Hellström J, Törrönen R. Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(19):7193-9. 2006
55. Matsuzaki K, Miyazaki K, Sakai S, Yawo H, Nakata N, Moriguchi S, Fukunaga K, Yokosuka A, Sashida Y, Mimaki Y, Yamakuni T, Ohizumi Y. Nobiletin. A citrus flavonoid with neurotrophic action, augments protein kinase A-mediated phosphorylation of the AMPA receptor subunit, GluR1, and the postsynaptic receptor response to glutamate in murine hippocampus. *European Journal of Pharmacology*. 578(2-3):194-200. 2008
56. Martínez-Sámano J., Torres-Durán P., Juárez-Oropeza M. El glutatión y su asociación con las enfermedades neurodegenerativas, la esquizofrenia, el envejecimiento y la isquemia cerebral. *Revista de educación Bioquímica*. 30(2): 56-67. 2011
57. Mayton H.S., Olivier C., Vaughn S.F., Loria R. Correlation of Fungicidal Activity of *Brassica* Species with Allyl Isothiocyanate Production in Macerated Leaf Tissue. *Phytopathology*. 86(3): 267-271. 1996.
58. McCloskey C., Isman M.B. Influence of foliar glucosinolates in oilseed rape and mustard on feeding and growth of the Bertha armyworm, *Mamestra configurata* Walker. *Journal of Chemical Ecology*. 19 (2): 249-266. 1993.
59. Medina E., Borges G., Lara C., Benjet C., Blanco J., Fleiz C., Villatoro J., Rojas E., Zambrano, J. Casanova L. Prevalencia de trastornos mentales y uso de servicios: resultados de la encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México. *Salud Mental*. 26 (4): 1-16. 2003.
60. Mendoza N., De León J., Figueroa-Hernández. Herbolaria. Actualidades farmacológicas. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM. PLM. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. México, D.F. 2002.

61. Monsalve R.I., Gonzalez de la Peña M.A., Menendez-Arias L., Lopez-Otin C., Villalba M., Rodriguez R. Characterization of a new oriental-mustard (*Brassica juncea*) allergen, Bra j IE: detection of an allergenic epitope. *Biochemical Journal*. 293 (3): 625-632. 1993.
62. Nabavi SF, Braidy N, Habtemariam S, Orhan IE, Daglia M, Manayi A, Gortzi O, Nabavi SM. Neuroprotective effects of chrysin: From chemistry to medicine. *Neurochemistry International*. 90():224-31. 2015
63. Nault L.R., Styer W.E. Effects of sinigrin on host selection by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 15: 423-427. 1972
64. Nepomuceno A., Ishiki M. Las plantas empleadas para el tratamiento de las infecciones respiratorias en Los Altos de Chiapas. *Ethnobiology*. 8: 11-30. 2010.
65. Pickhardt M., Gazova Z., von Bergen M., Khlistunova I., Wang Y., Hascher A., Mandelkow E.-M., Biernat J., Mandelkow E. Anthraquinones inhibit tau aggregation and dissolve Alzheimer paired helical filaments in vitro and in cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2005. 280(5):3628-35
66. Manesh C., Kuttan G. Anti-tumour and anti-oxidant activity of naturally occurring isothiocyanates. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 22 (2): 193-199. 2003.
67. Prieto-González S., Garrido-Garrido G., González-Lavaut J.A., Molina-Torres J. Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*. 35 (1): 19-36. 2004.
68. Rengifo P., Carhuapoma M., Artica L., Castro A., López S. Characterization and antioxidant activity of seed oil avocado *Persea americana* Mill. *Ciencia e Investigación*. 18(1): 33-36. 2015
69. Roa C., Milena S., Ardila A. Efectos de la escopolamina a corto y largo plazo en la memoria y las habilidades conceptuales. *Diversitas: Perspectivas en Psicología*. 9 (2): 335-346. 2013
70. Rodríguez G., Román F., Barrera J., Wilson-Corral V., Anderson C. Hiperacumulación inducida de oro y cobre en *Brassica juncea* (L.) Czern, cultivada en desechos de minas. (Tesis de maestría). Facultad de Ingeniería Civil Culiacán, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, México. 2012.

71. Sabogal-Guáqueta A.M., Muñoz-Manco J.I., Ramírez-Pineda J.R., Lamprea-Rodríguez M., Osorio E., Cardona-Gómez G.P. The flavonoid quercetin ameliorates Alzheimer's disease pathology and protects cognitive and emotional function in aged triple transgenic Alzheimer's disease model mice. *Neuropharmacology*. 93: 134-45. 2015.
72. Sandoval J. M., Richard M. P. La Salud Mental en México. México: Servicio de investigación y Análisis. Secretaría de Salud (SSA) (1998). Plan Nacional de Salud. 2000-2006. Principales causas de pérdida de años de vida saludable en México. 2005.
73. Sawmiller D., Li S. Shahaduzzaman M., Smith A. J., Obregon D., Giunta B., Borlongan C. V., Sanberg P. R., Tan J.. Luteolin Reduces Alzheimer's Disease Pathologies Induced by Traumatic Brain Injury. *International Journal of Molecular Sciences*. 15 (1): 895–904. 2014.
74. Schreiner M., Krumbein A., Ruppel S. Interaction between plants and bacteria: Glucosinolates and Phyllospheric colonization of Cruciferous vegetables by *Enterobacter radicincitans* DSM 16656. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. 17 (3): 124-135. 2009.
75. Small E. Culinary herbs. Ottawa, Canada: National Research Council Canada: 221-228. 2006.
76. Solis-Becerra G., Estrada-Lugo E. Prácticas culinarias y (re)conocimiento de la diversidad local de verduras silvestres en el Colectivo Mujeres y Maíz de Teopisca, Chiapas, México. *Liminar* 12 (2). 2014.
77. Szwajgier D, Baranowska-Wojcik E, Borowiec K. Phenolic Acids Exert Anticholinesterase and Cognition-Improving Effects. *Current Alzheimer Research* 15(6):531-543. 2018
78. Taguchi R., Hatayama K., Takahashi T., Hayashi T., Sato Y., Sato D., Ohta K., Nakano H., Seki C., Endo Y., Tokuraku K., Uwai K. Structure-activity relations of rosmarinic acid derivatives for the amyloid  $\beta$  aggregation inhibition and antioxidant properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 138: 1066-1075. 2017.
79. Thejass P., Kuttan G. Allyl isothiocyanate (AITC) and phenyl isothiocyanate (PITC) inhibit tumour-specific angiogenesis by downregulating nitric oxide (NO) and tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) production. *Nitric Oxide*. 16 (2): 247-257. 2007.

80. Thirumalai T., Therasa S. V., Elumalai E.K., David E. Hypoglycemic effect of *Brassica juncea* (seeds) on streptozotocin induced diabetic male albino rat. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 1(4) : 323–325. 2011.
81. Tota S, Nath C, Najmi AK, Shukla R, Hanif K. Inhibition of central angiotensin converting enzyme ameliorates scopolamine induced memory impairment in mice: Role of cholinergic neurotransmission, cerebral blood flow and brain energy metabolism. *Behavioural Brain Research*. 232 (1): 66-76. 2012.
82. Tripathi M.K., Mishra A.S. Glucosinolates in animal nutrition: A review. *Animal Feed Science and Technology*. 132: 1-27. 2007.
83. Tripathi M.K., Mishra Agrawal I.S., Sharma S.D., Mishra D.P. Effect of untreated, HCl treated or Copper or iodine supplemented high glucosinolate mustard (*Brassica juncea*) meal on nutrient utilization, liver enzymes, thyroid hormones and growth of calves. *Animal Feed Science and Technology*. 92 (1-2): 73-85. 2001.
84. Van Hung P. Phenolic Compounds of Cereals and Their Antioxidant Capacity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 56(1):25-35. 2016
85. Yadav S.P., Vats V., Ammini A.C., Grover J.K. *Brassica juncea* (Rai) significantly prevented the development of insulin resistance in rats fed fructose-enriched diet. *Journal of Ethnopharmacology*. 93 (1): 113-116. 2004.
86. Ye X., Ng T.B. Isolation and Characterization of Juncin, an Antifungal Protein from Seeds of Japanese Takana (*Brassica juncea* Var. *Integrifolia*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57 (10): 4366-4371. 2009.
87. Yokozawa T., Kim H.Y., Cho E.J. Yambi N., Choi J.S. Protective effects of mustard leaf (*Brassica juncea*) against diabetic oxidative stress. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)*. 49: 87-93. 2003.
88. Yokozawa T., Kim H.Y., Cho E.J., Choi J.S., Chung H.Y. Antioxidant effects of Isorhamnetin 3, 7-di-O-beta-Dglucopyranoside isolated from mustard leaf (*Brassica juncea*) in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (19): 5490-5495. 2002.
89. Yokozawa T., Kim H.Y., Cho E.J., Choi J.S., Chung H.Y. Antioxidant effects of Isorhamnetin 3, 7-di-O-beta-Dglucopyranoside isolated from mustard leaf (*Brassica juncea*) in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (19): 5490-5495. 2002.

90. Yoon B.H., Jung J.W., Lee J.J., Cho Y.W., Jang C.G., Jin C., Oh T.H., Ryu J.H. Anxiolytic-like effects of sinapic acid in mice. *Life Sciences*. 81 (3): 234-240. 2007.
91. Young T., Manthorp C., Howells D. *Comunicación y demencia: nuevas perspectivas, nuevos enfoques*. Barcelona Aresta Editorial 1º edición: 17-22 2010.
92. Yu J.C., Jiang Z.T., Li R., Chan S.M. Chemical Composition of the Essential Oils of *Brassica juncea* (L.) Coss. Grown in Different Regions, Hebei, Shaanxi and Shandong of China. *Journal of Food and Drug Analysis*. 11 (1): 22-26. 2003.
93. Zhang S., Chiang C.Y., Xie Y.F., Park S.J., Lu Y., Hu .JW., Dostrovsky J.O., Sessle B.J. Central sensitization in thalamic nociceptive neurons induced by mustard oil application to rat molar tooth pulp. *Neuroscience*. 142 (3): 833-842. 2006.
94. Zhang Y. Allyl isothiocyanate as a cancer chemopreventive phytochemical. *Molecular Nutrition & Food Research*. 54 (1): 127-135. 2010.
95. Zhou Z., Vailati-Riboni M., Trevisi E., Drackley J.K., Luchini D.N., Looor J.J. Better postpartal performance in dairy cows supplemented with rumen-protected methionine compared with choline during the peripartal period. *Journal of the American Dairy Science*. 99 (2016), pp. 8716-8732
96. Zhu Z., Li C., Wang X., Yang Z., Chen J., Hu L., Jiang H., Shen X. 2,2',4'-trihydroxychalcone from *Glycyrrhiza glabra* as a new specific BACE1 inhibitor efficiently ameliorates memory impairment in mice. *Journal of Neurochemistry*. 114 (2): 374-385. 2010.
97. Zou Y., Kim A. R., E. K. Jung, Choi J. S., Chung H. Y. Peroxynitrite Scavenging Activity of Sinapic Acid (3,5-Dimethoxy-4-hydroxycinnamic Acid) Isolated from *Brassica juncea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 5884-5890. 2002.
98. Zou Y., Kim A.R., Kim J.E., Choi J.S., Chung H.Y. Peroxynitrite Scavenging Activity of Sinapic Acid (3, 5-Dimethoxy-4- hydroxycinnamic Acid) Isolated from *Brassica juncea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (21): 5884-5890. 2002.

