Mexican Journal of Technology and Engineering *Volumen 4, Número 2*

Artículo de investigación https://doi.org/10.61767/mjte.004.2.3852

Hurtado-Mariles et al., 2025

Recibido: 20-04-2025 *Revisado: 02-05-2025* *Aceptado: 05-07-2025* *Publicado:30-08-2025*

Evaluación de nanoliposomas con extracto de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* (toronjil morado) en la modulación de la depresión

Evaluation of nanoliposomes with extract of *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* (purple lemon balm) in the modulation of depression

Alejandro Jonathan Hurtado-Mariles[1], Abigail Martínez-Jahuey[2], Alondra Isabela Torres-Martínez[2], Erika Adriana Villeda-Gutiérrez[2], Cristian Jiménez Martínez[3], Yolanda de las Mercedes Gómez-y Gómez[1] y Marcos Ignacio Jiménez-Zúñiga[3*]

[1] Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Departamento de Bioprocesos, Laboratorio de Farmacología, Ciudad de México 07340, México

[2] Universidad Tecnológica de Tecámac, División Químico Biológicas, Tecámac, Estado de México 55740, México

[3] Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Unidad Zacatenco, Laboratorio de Compuestos Bioactivos, Ciudad de México 07700, México

*Correspondencia: mjimenez.zuniga@hotmail.com

Resumen

La depresión afecta actualmente a 3.6 millones de adultos, y sus consecuencias para la salud pueden variar desde enfermedades físicas hasta el suicidio. Aunque se puede tratar mediante medicamentos y psicoterapia, en los últimos años se han explorado nuevas formas farmacéuticas que combinan extractos de plantas medicinales con efectos antidepresivos. El objetivo de esta investigación fue desarrollar nanoliposomas con extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* (Toronjil Morado) y evaluar su capacidad antidepresiva. Los extractos se obtuvieron mediante el método Soxhlet, y posteriormente se identificaron y cuantificaron los fenoles, flavonoides, taninos y la capacidad antioxidante, mediante métodos colorimétricos y la cuantificación por el espectrofotómetro UV-VIS. Para evaluar la efectividad del extracto de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* como agente antidepresivo, se realizaron pruebas en nueve ratones utilizando la prueba de nado forzado. En la primera fase del experimento, se administraron diferentes tratamientos a los ratones: tres ratones recibieron el control negativo, a tres se les administraron 200 mg/kg de nanoliposomas con extracto y a los otros tres 10 mg/kg de imipramina. En la segunda fase, se repitieron las mismas dosis de

Mexican Journal of Technology and Engineering, Vol. 4, No. 2 © 2025 by Sociedad Mexicana de Tecnología, Ingeniería y Humanidades is licensed under CC BY-NC-SA 4.0

Artículo de investigación

Hurtado-Mariles et al., 2025

extracto y medicamento 20 horas después de la primera administración, 30 minutos antes de la segunda fase. Los resultados mostraron que los nanoliposomas cargados con extracto de *Agastache mexicana* ssp*. mexicana* fueron eficaces, ya que redujeron significativamente el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado en comparación con los ratones del grupo control positivo, lo que sugiere un efecto antidepresivo. Además, el tiempo de inmovilidad observado con el extracto fue similar al de los ratones tratados con imipramina. El tiempo promedio de inmovilidad registrado fue de 40.33±5.85 segundos por cada 5 minutos. En conclusión, los resultados sugieren que *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* conserva sus propiedades antidepresivas, atribuibles en parte a la presencia de flavonoides, los cuales, según diversas investigaciones, tienen efectos antidepresivos, entre otras propiedades farmacológicas.

Palabras clave: *Agastache mexicana* ssp. *mexicana*, antidepresivo, nanoliposomas.

Abstract

Depression currently affects 3.6 million adults, and its health consequences can range from physical illness to suicide. Although it can be treated by medication and psychotherapy, new pharmaceutical forms combining medicinal plant extracts with antidepressant effects have been explored in recent years. The objective of this research was to develop nanoliposomes containing hydroalcoholic extract of *Agastache mexicana* ssp*. mexicana* (Toronjil Morado) and to evaluate their antidepressant potential. The extracts were obtained by the Soxhlet method, and subsequently phenols, flavonoids, tannins and antioxidant capacity were identified and quantified by colorimetric methods and quantification by UV-VIS spectrophotometer. To evaluate the effectiveness of *Agastache mexicana* ssp*. mexicana* extract as an antidepressant agent, nine mice were tested using the forced swim test. In the first phase of the experiment, different treatments were administered to the mice: three mice received the control, three were given 200 mg/kg nanoliposomes with extract and the other three were given 10 mg/kg imipramine. In the second phase, the same doses of extract and drug were repeated 20 hours after the first administration, 30 minutes before the second phase. The results showed that nanoliposomes containing *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* extract were effective, as they significantly reduced the immobility time in the forced swim test compared to mice in the control group, suggesting an antidepressant effect. Furthermore, the immobility time observed with the extract was similar to that of the imipramine-treated mice. The mean immobility time recorded was 40.33±5.85 seconds per 5 minutes. In conclusion, the results suggest that *Agastache mexicana ssp. mexicana* conserves its antidepressant properties, attributable in part to the presence of flavonoids, which, according to several investigations, have antidepressant effects, among other pharmacological properties.

Keywords: *Agastache mexicana* ssp*. mexicana*, antidepressant, nanoliposomes.

1. Introducción

Los liposomas son pequeñas vesículas con forma esférica, constituidas por una doble capa lipídica, usualmente compuesta por fosfolípidos. Estas vesículas suelen encapsular agua en su interior, formando un núcleo acuoso que está rodeado por las bicapas lipídicas. Esta estructura facilita la

encapsulación tanto de sustancias hidrofílicas como lipofílicas. Debido a que los lípidos son moléculas anfipáticas (poseen regiones hidrofóbicas e hidrofílicas), en ambientes acuosos, sus propiedades termodinámicas promueven el autoensamblaje, dando lugar a bicapas esféricas conocidas como láminas (Figueroa-Robles et al., 2020).

Gracias a estas características estructurales y funcionales, los liposomas han sido ampliamente estudiados como sistemas de liberación de compuestos bioactivos. Diversos estudios in vitro demuestran efectos comprobados de los liposomas cargados con compuestos fenólicos en el organismo. Este tipo de compuestos fenólicos poseen actividades comprobadas como anticancerígenas, antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas y neuroprotectoras. Factores como el tamaño de los liposomas, la temperatura de transición de fase, el pH, el potencial zeta, la bioaccesibilidad, la baja toxicidad, la velocidad de liberación y la capacidad antioxidante influyen en la eficacia de los liposomas (Figueroa-Robles et al., 2020).

En este contexto, resulta relevante considerar el impacto potencial de los compuestos fenólicos en la salud mental, particularmente en el tratamiento de trastornos como la depresión. La depresión es un trastorno mental frecuente que afecta a más de 300 millones de personas a nivel global. Según la Organización Mundial de la Salud, la depresión ocupa el tercer lugar como causa principal de carga mundial por enfermedades, y está vinculada a un mayor riesgo de mortalidad, suicidio y padecimientos crónicos, como enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2. Estudios recientes que analizan nutrientes específicos, alimentos y patrones dietéticos indican que la nutrición podría ser un factor modificable que influye en la salud mental. En este sentido, los polifenoles, compuestos naturales producidos exclusivamente por plantas como metabolitos secundarios, han cobrado especial interés. Con más de 8,000 estructuras identificadas, estos polifenoles se encuentran en altas concentraciones en alimentos vegetales como frutas, verduras, hierbas, especias, cereales, legumbres, nueces, así como en bebidas y extractos vegetales (Gamage et al., 2023).

Considerando lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo general obtener un extracto hidroalcohólico de toronjil morado, encapsular sus compuestos bioactivos en nanoliposomas para mejorar su estabilidad y biodisponibilidad, y evaluar el efecto antidepresivo de esta formulación mediante la prueba de nado forzado en un modelo experimental. De esta manera, se buscó determinar la eficacia de los nanoliposomas como sistema de liberación para potenciar la actividad farmacológica del extracto, contribuyendo al desarrollo de alternativas naturales para el tratamiento de trastornos depresivos, mediante un enfoque innovador que combinó la nanotecnología con la farmacognosia.

2. Materiales y métodos

2.1 Obtención del extracto por el método de Soxhlet

Se colocaron 10 g de materia vegetal de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* (toronjil morado) en un dedal para Soxhlet. A continuación, se añadió una solución hidroalcohólica 1:1 como disolvente de extracción en un matraz balón de 500 mL. Se montó un condensador en el equipo de Soxhlet y se aplicó calor al matraz, manteniendo una temperatura aproximada de 85 °C. Se permitieron cuatro ciclos de extracción, tras los cuales se retiró el matraz balón. El líquido obtenido se decantó en un recipiente ámbar, el cual fue preparado para almacenar el extracto en un lugar fresco y oscuro (Espada Domínguez. *et al.,* 2020).

2.2 Tamiz fisicoquímico

Las lecturas para la detección de fenoles, flavonoides y taninos se realizaron 24 horas después de llevar a cabo los ensayos cualitativos correspondientes. Todos los análisis del tamiz fitoquímico se realizaron por triplicado, siguiendo la metodología descrita por Zuniga et al., (2019).

2.2.1 Determinación de flavonoides

Se disolvieron 0.5 mL del extracto en 2 mL de etanol y se dividió en 3 tubos. El tubo número 1 fue el testigo. Al tubo número 2 se realizó la reacción de Shinoda, se agregaron 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado (si hay color rojizo existe la presencia de auronas o chalconas). Si hay cambio, colocar 10 pequeños trozos de magnesio metálico (de naranja a rojo presencia de flavonas y si es magenta presencia de flavononas). Al tubo número 3 se realizó la reacción de hidróxido de sodio 10%, se adicionaron 3 gotas de hidróxido de sodio (coloración amarilla a rojo presencia de xantonas y flavonas, café a naranja de flavonoides; de púrpura a rojizo de chalconas y azul de antocianinas) (Zuniga *et al*., 2019).

2.2.2 Determinación de fenoles

Se tomaron 100 µL del extracto y se distribuyeron en 5 tubos de ensayo. A cada tubo se le añadieron 50 µL de agua destilada, lo que permitió obtener una coloración amarilla. Los tubos fueron organizados de la siguiente manera: el primero sirvió como testigo; al segundo se le añadió 1 gota de cloruro férrico; al tercero, 2 gotas de cloruro férrico; al cuarto, 3 gotas de cloruro férrico; y al quinto, 4 gotas de cloruro férrico. La prueba se interpretó según los siguientes criterios: si no se observa cambio de color, no hay presencia de fenoles o taninos; si la coloración se torna azul oscuro, indica la presencia de fenoles o taninos pirogálicos (hidrosolubles); y si se observa un cambio a verde oscuro, sugiere la presencia de fenoles o taninos tipo catecol (flavonoides o taninos concentrados) (Zuniga *et al*., 2019).

2.2.3 Determinación de taninos

A 1 mL del extracto se le añadieron 2 mL de agua destilada y 3 gotas de cloruro de sodio al 2%. La mezcla se calentó hasta ebullición durante 1 minuto, luego se enfrió y se filtró. El filtrado se dividió en 4 tubos de ensayo. El primer tubo sirvió como testigo. En el segundo tubo, se realizó la reacción con gelatina, añadiendo 2 gotas del reactivo de gelatina. La formación de un precipitado blanco indica la presencia de taninos. En el tercer tubo, se llevó a cabo la reacción con cloruro férrico, añadiendo una gota de cloruro férrico al 1%. La formación de una coloración azul o negra sugiere la presencia de derivados del ácido gálico, mientras que un color verde indica la presencia de derivados del catecol. En el cuarto tubo, se adicionó 1 gota de ferricianuro de potasio al 1%, observándose una coloración azul, lo que indica la presencia de componentes fenólicos (Zuniga *et al*., 2019).

2.3 Cuantificación de metabolitos secundarios

2.3.1 Cuantificación de fenoles

La cuantificación de fenoles totales se realizó siguiendo el método descrito previamente (Zuniga *et al*., 2019). Para ello, se preparó una curva estándar con concentraciones de ácido gálico. A cada tubo se añadieron 100 µL de los extractos previamente diluidos en una proporción 1:5, se agitaron en un Vortex Genie 2 y se dejaron en oscuridad durante 30 minutos antes de medir la absorbancia a 760 nm en un Espectrofotómetro PerkinElmer Lambda XLS. Los valores obtenidos se interpolaron en la curva estándar, expresando los resultados como concentración de fenoles totales en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra.

2.3.2 Cuantificación de taninos

La cuantificación de taninos se llevó a cabo utilizando el método modificado de Folin-Ciocalteau (Zuniga *et al*., 2019). Para ello, se preparó una curva estándar con concentraciones de ácido tánico. A cada tubo de ensayo se añadieron 100 µL de los extractos previamente diluidos, se agitaron en un Vortex Genie 2 y se dejaron reposar durante 40 minutos antes de medir la absorbancia a 725 nm en un Espectrofotómetro PerkinElmer Lambda XLS. Los valores obtenidos se interpolaron en la curva estándar, expresando los resultados como concentración de taninos en mg equivalentes de ácido tánico por gramo de muestra.

2.3.3 Cuantificación de flavonoides

La cuantificación de flavonoides totales se realizó siguiendo el método descrito previamente

(Zuniga *et al*., 2019). Se preparó una curva estándar con concentraciones de quercetina. A cada tubo de ensayo se añadieron 500 µL de los extractos previamente diluidos, se agitaron en un Vortex Genie 2 y se dejaron reaccionar durante 30 minutos antes de medir la absorbancia a 415 nm en un Espectrofotómetro PerkinElmer Lambda XLS. Los valores obtenidos se interpolaron en la curva estándar, expresando los resultados como concentración de flavonoides totales en µg equivalentes de quercetina por gramo de muestra.

2.4 Cuantificación de la actividad antioxidante (AAO)

2.4.1 Cuantificación de la capacidad antioxidante por el método ABTS

La cuantificación de la actividad antioxidante se realizó mediante el método de ABTS. El radical ABTS se generó mediante la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2.45 mM), que se incubó a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) y en oscuridad durante 16 horas. Una vez formado el radical, se tomó 1 mL de la solución y se diluyó con etanol hasta obtener una absorbancia entre 0.70 (±0.01) a 734 nm. Todo el proceso se realizó en completa oscuridad.

Se preparó una curva estándar, y cada tubo fue agitado con un Vortex Genie 2. La absorbancia se midió a 734 nm, utilizando etanol como blanco. Se añadieron 40 µL de los extractos y 1960 µL del reactivo ABTS en los tubos de ensayo. Los tubos fueron agitados en un Vortex Genie 2 y se leyó la absorbancia a 734 nm en un Espectrofotómetro PerkinElmer Lambda XLS. Los valores obtenidos se interpolaron en la curva estándar de trolox, y los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición (Zuniga *et al*., 2019).

2.4.2 Cuantificación de la capacidad antioxidante por el método DPPH

La cuantificación de la actividad antioxidante se realizó utilizando el método modificado de DPPH, el cual se basa en la reducción de la absorbancia del radical DPPH a 517 nm. Todo el proceso se llevó a cabo en total oscuridad. Se preparó una curva estándar, y cada tubo fue agitado con un Vortex Genie 2. Luego, se dejó reposar durante 30 minutos y se midió la absorbancia a 517 nm, utilizando metanol como blanco.

Se añadieron 50 µL de los extractos y 2000 µL del reactivo DPPH en los tubos de ensayo. Los tubos fueron agitados en un Vortex Genie 2 y se dejaron reposar durante 30 minutos. Después, se midió la absorbancia a 517 nm en un Espectrofotómetro PerkinElmer Lambda XLS, y los valores obtenidos se interpolaron en la curva estándar de trolox, expresando los resultados como porcentaje de inhibición (Zuniga *et al*., 2019).

2.5 Preparación de nanoliposomas

Los nanoliposomas se prepararon mediante el método de inyección, utilizando una fase orgánica y una fase acuosa, realizando las preparaciones por duplicado. La fase orgánica se obtuvo disolviendo 1 g de lecitina de soja, 200 µL de Tween 80%, 15 mL de alcohol etílico 96% y 1 g de extracto en alcohol etílico a 30 °C, siendo el extracto incluido únicamente en la primera preparación. La fase acuosa se preparó al 1% de gelatina. La fase acuosa se inyectó en la fase orgánica a un goteo de 200 µL/min, a 40 °C. La mezcla se homogeneizó a 3000 rpm utilizando un agitador magnético durante 15 min. Una vez homogenizadas las soluciones, se observaron al microscopio a un aumento de 100x para verificar la presencia de nanoliposomas (Alexander *et al*., 2016).

Tras la obtención de los nanoliposomas, se procedió a analizar su morfología utilizando un microscopio de contraste de fases (Ni-U Nikon). Para ello, se capturaron micrografías empleando un objetivo de 40X y una cámara acoplada con aumento de 10X, lo que permitió observar detalladamente la estructura de los nanoliposomas. Posteriormente a la obtención de las micrografías, se utilizó el software ImageJ para visualizar y analizar la morfología y estructura de los nanoliposomas.

2.6 Espectroscopia FTIR a nanoliposomas

El análisis espectroscópico se realizó siguiendo la metodología descrita por Pereira *et al*., (2014). Se estudiaron los nanoliposomas, tanto con extracto como sin él, mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, utilizando el accesorio ATR (Reflectancia Total Atenuada) en un Espectrómetro Perkin Elmer Spectrum Two. Se emplearon 50 µL de los nanoliposomas, los cuales fueron analizados en el rango de 4000 a 500 cm^{-1}.

2.7 Prueba de Nado Forzado (modelo in vivo)

Esta prueba constó de dos etapas. La primera consistió en una sesión de entrenamiento o pre-test, en la cual el ratón fue introducido en un cilindro durante 15 min. En esta fase, el animal aprendió que no tenía posibilidad de escapar y, por lo tanto, solo realizó los movimientos mínimos necesarios para mantenerse a flote (inmovilidad). Después de un período de movimiento vigoroso, el ratón adoptó una postura inmóvil, manteniendo la cabeza fuera del agua para respirar. Esta inmovilidad reflejó un estado de depresión y desesperación, el cual pudo ser revertido mediante un tratamiento con antidepresivos (Porsolt *et al*., 1977a, b; Xu *et al*., 2005; Dasilva *et al*., 2006). El modelo propuesto por Porsolt *et al*. (1977) fue modificado. El equipo utilizado consistió en un cilindro de vidrio de 40 cm de altura por 19.5 cm de diámetro, con 35 cm de agua a una temperatura de 25±1°C. Todos los animales fueron obligados a nadar durante 15 min (pre-test), seguido de una sesión de 5 min (prueba), que se realizó 24 horas después del pre-test (Murakami *et al*., 2008). Los ratones fueron agrupados en lotes de 3 para cada tratamiento. Al finalizar el pre-test, el ratón fue retirado del cilindro, se secó con una toalla absorbente y se colocó en una caja con aserrín a una temperatura de 31±1 °C hasta que recuperó su temperatura corporal. Posteriormente, se administró la primera dosis de cada tratamiento, correspondiente a la primera latencia de administración, 24 h antes de la prueba. Cinco horas antes de las 24 h del pre-test, se administró la segunda dosis de cada tratamiento. Finalmente, una hora antes de las 24 h, se administró la tercera dosis. De esta manera, se completó el ciclo de administración de tres dosis. La segunda parte del experimento se llevó a cabo 24 h después del pre-test, momento en el que el ratón fue introducido nuevamente en el cilindro con agua y permaneció allí durante 5 minutos. Los ratones fueron grabados en video para su posterior análisis. El uso y cuidado de los animales se llevó a cabo siguiendo los lineamientos establecidos en la NOM-062-ZOO-1999 que establece las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. El presente estudio fue realizado de acuerdo con los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki y contó con la aprobación del Comité de Ética e Investigación (CEI) – Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Universidad Tecnológica de Tecámac, bajo el número de registro DQB/003/2025.

2.8 Análisis estadístico

Los resultados se expresan como la media ± la desviación estándar de los datos. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de varianza unidireccional ANOVA seguido de las múltiples pruebas de comparación de Dunnet. El nivel de significancia en comparación con el control ($P < 0,05$) se consideró para cada prueba, utilizando el software GraphPad Prisma 5.

3. Resultados y discusión

En el análisis fitoquímico se detectó la presencia de fenoles, taninos y flavonoides en el extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* (toronjil morado) (tabla 1).

En el presente trabajo, los resultados obtenidos fueron positivos respecto a la presencia de compuestos fenólicos, destacando la identificación de fenoles tipo catecol, flavonoides tipo flavonas y otros flavonoides, así como taninos tipo catecol en el extracto hidroalcohólico de toronjil morado. El toronjil morado (*Agastache mexicana* ssp. *mexicana*), perteneciente a la familia *Lamiaceae*, es una planta medicinal conocida por su alto contenido de metabolitos secundarios, entre los que se destacan los

flavonoides, fenoles y terpenoides, responsables de sus propiedades farmacológicas. Entre los compuestos activos identificados se encuentran flavonoides como la acacetina, luteolina y diosmetina; terpenoides volátiles como la mentona, pulegona, limoneno y citronelal; así como compuestos fenólicos como los ácidos rosmarínico y cafeico, reconocidos por sus efectos antioxidantes y neuroprotectores (Nechita *et al*., 2023).

En el extracto se detectó la presencia de fenoles del tipo catecol, compuestos fenólicos ampliamente reconocidos como metabolitos secundarios. Estos compuestos derivan de un fenol, que consiste en un anillo aromático unido a un grupo hidroxilo. Asimismo, se identificaron flavonoides, destacando especialmente las flavonas. Los flavonoides son compuestos presentes en diversas plantas y desempeñan múltiples funciones biológicas, tales como la resistencia a la fotoxidación, la protección contra infecciones virales y fúngicas, la regulación del transporte hormonal y, de manera relevante, su papel en la atracción de insectos polinizadores, lo que favorece la reproducción vegetal (Estrada *et al*., 2012). Además de sus beneficios para la planta, estos compuestos ofrecen importantes ventajas para la salud humana. Se ha demostrado que los flavonoides poseen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, cardiotónicas, analgésicas, antivirales y antifúngicas. Investigaciones recientes también han revelado que, gracias a su acción antioxidante, los flavonoides pueden prevenir enfermedades cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer y proteger el sistema nervioso central de efectos dañinos.

En la tabla 2 se presenta la cuantificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico, donde se observa un aumento en los niveles de fenoles y taninos. Además, se incluyen los resultados de la actividad antioxidante, determinada mediante los métodos ABTS y DPPH, los cuales muestran que el extracto posee un porcentaje de inhibición de la capacidad antioxidante superior al 90%.

Tabla 1. Composición de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* (toronjil morado).

Metabolito secundario	**Reacción**	**Extracto hidroalcohólico de toronjil morado**
Flavonoides	Shinoda	+ flavonas
	Hidróxido de sodio al 10 %	+ flavonoides
Fenoles	Cloruro férrico	+ fenoles o taninos de tipo catecol
Taninos	Cloruro férrico	+ derivados de catecol

Tabla 2. Análisis cuantitativo de metabolitos secundarios y capacidad antioxidante (DPPH, ABTS).

Extracto	**Metabolito secundario**	**Cuantificación**
Toronjil morado	Fenoles	mg equivalentes de ácido gálico /g 8.127±0.050
	Flavonoides	mg equivalentes de quercetina/g 0.025±0.013
	Taninos	mg equivalentes de ácido tánico/g 0.745±0.0130
Radical	Capacidad antioxidante %	Concentración trolox (mM/mL)
ABTS	98.7197±0.8534	0.0483±0.0004
DPPH	94.9404±0.0644	0.0488±0.00003

Artículo de investigación

Hurtado-Mariles et al., 2025

Por lo tanto, se cuantificaron los metabolitos secundarios presentes en el extracto de toronjil morado, incluyendo flavonoides, fenoles y taninos, así como la actividad antioxidante mediante los métodos ABTS y DPPH. En la Tabla 2 se muestra la concentración de fenoles expresada en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra. De acuerdo con Zuniga *et al*., (2019), el contenido de fenoles reportado fue de 0.933±0.105 mg eq/g de ácido gálico, mientras que en los resultados obtenidos en el presente trabajo se observó un valor mayor, de 8.127±0.050 mg eq de ácido gálico/g. Esta diferencia podría atribuirse al método de extracción y la polaridad del solvente utilizado en la extracción. Por otro lado, en la tabla 2 se muestra la concentración de taninos expresada en mg equivalentes de ácido tánico por gramo de muestra. Los resultados obtenidos en este estudio fueron de 0.745±0.0130 mg eq de ácido tánico/g, en comparación, Zuniga *et al*., (2019) reportó un valor de 0.204±0.0004 mg eq de ácido tánico /g en un extracto etanólico, lo que evidencia una diferencia considerable con los resultados de este trabajo. Esta variación podría estar relacionada con el estado de madurez de la planta. Por otro lado, de acuerdo con la tabla 2 se muestra la concentración de flavonoides expresada en mg equivalentes de quercetina por gramo de muestra. Los resultados obtenidos en este estudio sobre el extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* alcanzó una concentración de flavonoides de 0.025±0.013 mg eq equivalentes de quercetina /g. Al comparar este resultado con el reportado por Zuniga *et al*., (2019), que obtuvo 0.110±0.00001, se observa una diferencia notable, siendo el valor de Zuniga *et al*., (2019) considerablemente menor. Esta discrepancia podría explicarse por las diferencias en la polaridad de los solventes utilizados en el proceso de extracción de los metabolitos secundarios, la madurez de la planta y los solventes utilizados durante el proceso de extracción.

El extracto de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana*, comúnmente conocido como toronjil morado, demostró una destacada capacidad antioxidante, según los resultados obtenidos mediante los métodos ABTS y DPPH. En el ensayo ABTS, alcanzó un valor de 98.72 ± 0.85 %, mientras que en el método DPPH obtuvo 94.94 ± 0.06 %, lo que refleja una elevada actividad antioxidante, comparable con la reportada en otras especies pertenecientes a la misma familia. En el caso del método ABTS, que mide la capacidad de los compuestos para neutralizar el radical catiónico ABTS, los resultados obtenidos sugieren una potente acción antioxidante, lo que coincide con estudios previos que han destacado la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos en *Agastache mexicana ssp. mexicana*, conocidos por su capacidad de capturar radicales libres (Zuniga *et al*., 2019). Estos compuestos son responsables de la reducción del daño celular y el estrés oxidativo, factores asociados con diversas enfermedades crónicas. Por otro lado, el método DPPH, que evalúa la habilidad del extracto para reducir el radical libre DPPH, también reflejó una capacidad antioxidante significativa. Ambos métodos coinciden en el potencial de la planta para neutralizar especies reactivas de oxígeno, lo que respalda su uso tradicional como agente terapéutico. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que el toronjil morado podría tener aplicaciones en la prevención de enfermedades relacionadas con el daño oxidativo (Zuniga *et al*., 2019).

En la Figura 1 se presentan los datos del tiempo de inmovilidad de la actividad antidepresiva de los nanoliposomas cargados con extracto hidroalcohólico de toronjil morado, el tiempo de inmovilidad de los ratones a los que se les administro los nanoliposomas con el extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* fue mucho menor en comparación con el control, y también menor que al grupo que se le administro Imipramina (control positivo, fármaco antidepresivo).

Artículo de investigación

Hurtado-Mariles et al., 2025

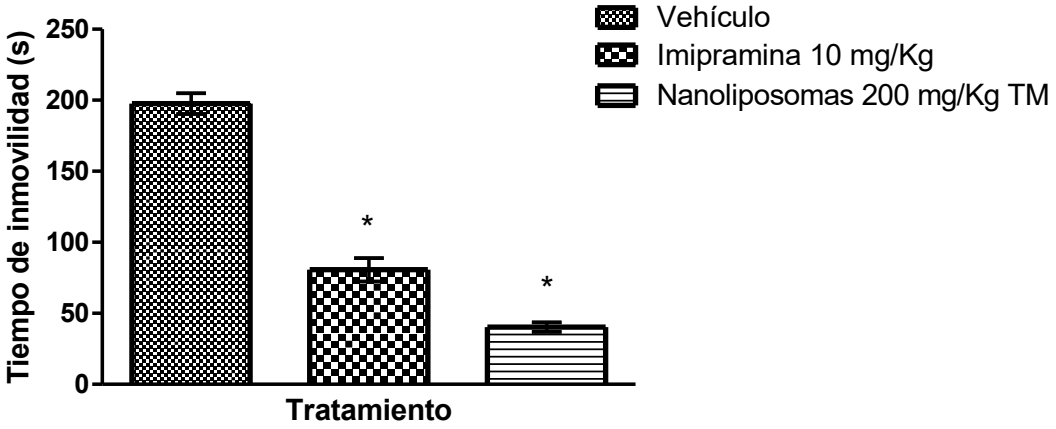

Figura 1. Tiempo de inmovilidad de los nanoliposomas del extracto de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* a dosis de 200 mg/Kg, Imipramina 10 mg/kg y vehículo, los valores indican la media ± DS con una n=3 en cada grupo con una p<0.05** en comparación con el vehículo.

En la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos en la prueba de nado forzado, en la cual se evaluó el tiempo de inmovilidad de los tratamientos administrados en un modelo *in vivo*. Los nanoliposomas que contienen el extracto de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* mostró un tiempo de inmovilidad significativamente menor (40.33 ± 5.85 s/5 min) en comparación con el observado para la imipramina (80.66±14.15 s/5 min). Estos resultados indican que existe una diferencia significativa entre el tratamiento con nanoliposomas y el grupo vehículo.

La prueba de nado forzado, que evalúa la desesperanza conductual, se basa en la reducción de la inmovilidad como indicador de actividad antidepresiva. En esta prueba, se registran comportamientos activos como la natación, el escalamiento y el buceo dentro de un cilindro con agua. La administración de fármacos antidepresivos generalmente disminuye el tiempo de inmovilidad, lo que sugiere una posible actividad antidepresiva del extracto. No obstante, se recomienda realizar pruebas complementarias que evalúen la desesperanza, con el fin de descartar posibles falsos positivos o negativos (Molendijk *et al*., 2015). Diversos estudios han demostrado que muchos flavonoides poseen efectos farmacológicos, especialmente con actividad neuroprotectora y antitumoral. Recientemente, se ha evidenciado que los flavonoides extraídos de plantas naturales también presentan efectos antidepresivos, tanto en estudios celulares como en modelos animales. Estos efectos se han asociado con la modulación de neurotransmisores como la serotonina (5-HT), noradrenalina (NA), dopamina (DA) y el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (Haq *et al*., 2021). Con base en los resultados de la prueba de nado forzado, se sugiere que el extracto de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* podría ejercer un efecto similar al de los antidepresivos convencionales, al reducir el tiempo de inmovilidad y aumentar la actividad motora en los ratones. Sin embargo, aún no se ha determinado el mecanismo de acción exacto, y no se ha confirmado si los flavonoides presentes en esta especie actúan sobre los mismos receptores serotoninérgicos que los fármacos antidepresivos.

En la Figura 2 se presentan los datos del tiempo de nado de la actividad antidepresiva de los nanoliposomas cargados con extracto hidroalcohólico de toronjil morado, el tiempo de nado de los ratones a los que se les administro los nanoliposomas con el extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* fue menor en

comparación con el control, y mayor que al grupo que se le administro Imipramina (control positivo, fármaco antidepresivo).

En la Figura 2 se muestra el tiempo de nado registrado en ratones tratados con nanoliposomas encapsulados con extracto de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana*, el cual fue de 97.66±17.38 s/5 min. En comparación, el grupo tratado con imipramina a una dosis de 10 mg/kg presentó un tiempo de nado de 139±32.41 s/5 min. Por otro lado, el grupo control tratado con el vehículo mostró un tiempo significativamente menor, de 84±8.71 s/5 min. Estos resultados indican que tanto el tratamiento con nanoliposomas como el de imipramina mejoran el desempeño en la prueba de nado forzado, al aumentar significativamente el tiempo de nado en comparación con el grupo vehículo. El grupo tratado con imipramina a una dosis de 10 mg/kg mostró una diferencia significativa en el tiempo de nado en comparación con los demás grupos. Esta variación sugiere que la administración de imipramina pudo haber influido en la capacidad de los ratones para nadar, posiblemente como resultado de un aumento en la motivación o en la actividad física inducida por el fármaco. Al comparar estos resultados con los reportados por Robles Molina *et al*., (2014), se observa una coincidencia parcial en los efectos observados, lo cual respalda la validez de los datos obtenidos en el presente estudio. No obstante, es importante tener en cuenta que, si bien se evidencian diferencias en los tiempos de nado, diversos factores podrían haber influido en los resultados, tales como la variabilidad biológica entre los animales, las condiciones experimentales y la dosificación utilizada. Por ello, se sugiere realizar estudios adicionales que incluyan un mayor tamaño de muestra y diferentes concentraciones de imipramina, con el propósito de confirmar y ampliar los hallazgos obtenidos.

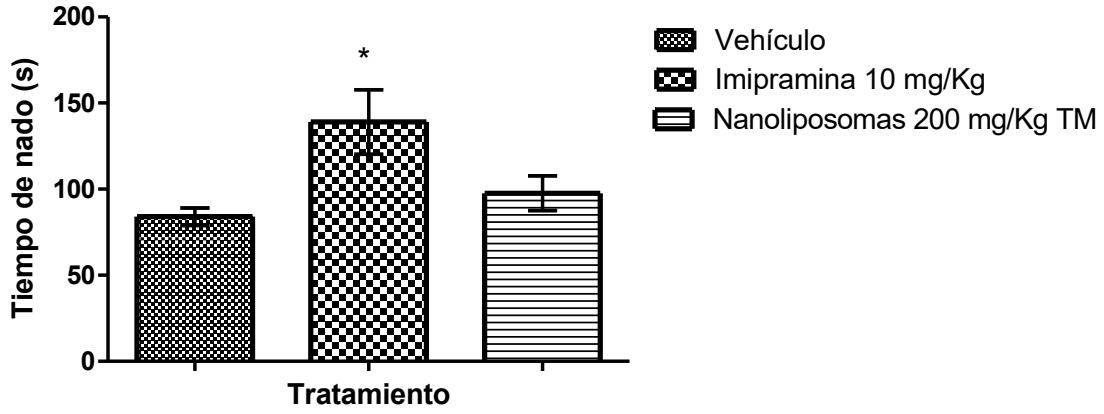

Figura 2. Tiempo de nado de los nanoliposomas del extracto de *Agastache mexicana ssp. mexicana* a dosis de 200 mg/Kg, Imipramina 10 mg/kg y vehículo, los valores indican la media ± DS con una n=3 en cada grupo con una p<0.05** en comparación con el vehículo.

En la figura 3 se muestran los nanoliposomas observados mediante microscopía de contraste de fases. Según el análisis del área superficial realizado con el software ImageJ, se obtuvieron valores promedio de 0.0063 ± 0.00013 cm^2. Dependiendo de la técnica empleada para la elaboración de los nanoliposomas, se observaron superficies de 0.0076 y 0.0050 cm^2, lo cual podría atribuirse al método de goteo utilizado durante su obtención. Además, la presencia del compuesto bioactivo, que consiste en un conglomerado de múltiples metabolitos

secundarios de la planta, puede generar variabilidad en las áreas superficiales. Según Lindner et al. (2010), los liposomas con mayor área superficial tienden a liberar el fármaco más rápidamente en respuesta a ciertos estímulos, debido a su menor estabilidad y a una mayor susceptibilidad a interacciones externas. Se ha demostrado que el aumento en el tamaño de la superficie puede modificar tanto los tiempos de liberación como la retención del fármaco en el medio. Según Jaudoin et al. (2023), un menor tamaño y área superficial de los liposomas favorece una liberación más rápida de los principios activos. Por el contrario, un aumento en el tamaño de la superficie puede dificultar la liberación de las biomoléculas activas provenientes de diversas fuentes biológicas. Además, para optimizar la liberación, el tamaño de las partículas liposomales debe ser aproximadamente igual o inferior a 200 nm.

En la Figura 4 se observan los resultados de Espectroscopia FTIR de las muestras analizadas de nanoliposomas (base), nanoliposomas con extracto y el extracto hidroalcohólico de toronjil morado.

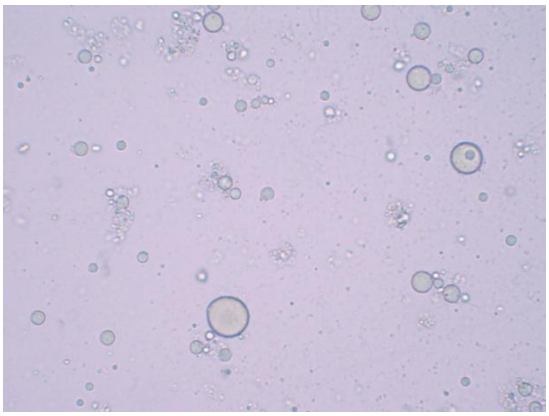

Figura 3. Nanoliposomas observados mediante microscopía de contraste de fases, donde se aprecian vesículas esféricas de diferentes tamaños dispersas en el campo visual.

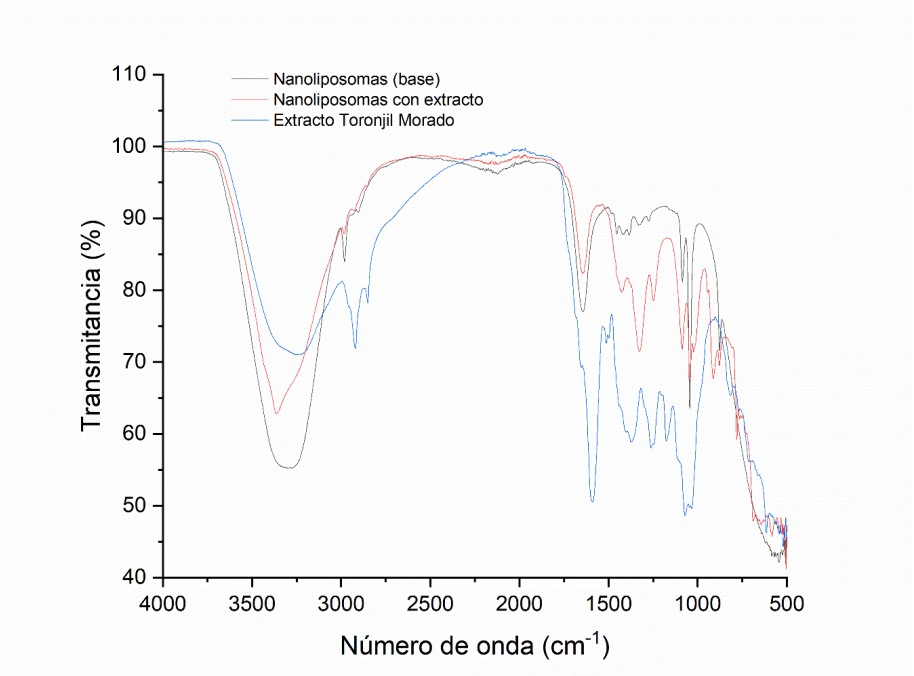

Figura 4. Perfil espectroscópico FTIR de nanoliposomas sin carga, con extracto y del extracto hidroalcohólico de toronjil morado.

En la Figura 4 se observan los enlaces los resultados de los grupos funcionales encontrados en las nanoliposomas (base), nanoliposomas con extracto de toronjil morado y el extracto hidroalcohólico de toronjil morado. De acuerdo con Cuesta *et al*., (2015), la técnica de espectroscopía infrarroja (IR) no se emplea de manera rutinaria para la identificación específica de flavonoides. No obstante, esta técnica permite detectar la presencia de grupos funcionales característicos, como los grupos fenólicos, los cuales se pueden identificar en la región comprendida entre 3500 y 3300 cm^{-1}. De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, se observó una señal en ese rango, correspondiente a la vibración de elongación del grupo hidroxilo (–OH), lo que sugiere la presencia de compuestos fenólicos en la muestra analizada. Los flavonoides se caracterizan por presentar bandas de absorción asociadas a los grupos funcionales que los componen, entre los que destacan los grupos hidroxilo (–OH), propios de fenoles y alcoholes, el grupo carbonilo (C=O) de cetonas, anillos bencénicos y estructuras de éter cíclico (Matos *et al*., 2007). Tal como se muestra en la Figura 4, el extracto de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* presentó señales correspondientes a estos grupos funcionales. Estos resultados se ven respaldados por el tamiz fitoquímico, en el cual se obtuvo una reacción positiva para flavonoides. De acuerdo con Cruz (2014), la banda de absorción en 2854 cm^{-1} corresponde a las vibraciones asimétricas de los enlaces CH_2 y CH_3, grupos funcionales presentes en diversos flavonoides, entre ellos la rutina. Al comparar esta información, se identificó una señal correspondiente al grupo CH_2, lo que sugiere la posible presencia de dicho flavonoide en el extracto analizado.

4. Conclusiones

Los nanoliposomas con extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana ssp. mexicana* (toronjil morado) demuestran un alto potencial terapéutico, evidenciado por su riqueza en compuestos fenólicos y flavonoides, su notable capacidad antioxidante y sus efectos antidepresivos comparables a los de un fármaco convencional. Estos hallazgos respaldan su uso tradicional y sugieren que el toronjil morado podría ser una fuente natural valiosa para el desarrollo de nuevos agentes antioxidantes y antidepresivos, aunque se requieren investigaciones adicionales para confirmar y ampliar estos resultados.

Agradecimientos

Al Programa Especial de Consolidación de Investigadores del IPN por el proyecto 20250922. Al Laboratorio de Farmacología del Departamento de Bioprocesos de la UPIBI-IPN por las facilidades prestadas para realizar los experimentos. Al CONAHCYT y la SECIHTI por el otorgamiento de beca posdoctoral.

Declaraciones y afirmaciones

Fondos: Al Programa Especial de Consolidación de Investigadores del IPN por el proyecto 20250922.

Conflicto de interés: Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Aprobación de ética: Aprobación con el código DQB/003/2025, aprobado por el comité de ética e investigación (CEI) – comité interno para el cuidado y uso de los animales de laboratorio (CICUAL) de la Universidad Tecnológica de Tecámac.

Disponibilidad de los datos: Contactar a los autores en caso de requerir las bases de datos de esta investigación.

Contribución de los autores:

Alejandro Jonathan Hurtado-Mariles: Conceptualización, Recursos, Curación de datos, Redacción-revisión-edición, Supervisión y administración del proyecto.

Abigail Martínez-Jahuey: Metodología, Investigación.

Artículo de investigación

Hurtado-Mariles et al., 2025

Alondra Isabel Torres-Martínez: Metodología, Investigación.

Erika Adriana Villeda-Gutiérrez: Curación de datos, Redacción-revisión-edición.

Cristian Jiménez-Martínez: Análisis formal, Supervisión, Supervisión y administración del proyecto.

Yolanda de las Mercedes Gómez-y Gómez: Análisis formal, Recursos, Supervisión, Supervisión y administración del proyecto.

Marcos Ignacio Jiménez-Zuñiga: Conceptualización, Software, Recursos, Curación de datos, Redacción-revisión-edición, Supervisión y administración del proyecto.

Todos los autores revisaron y aprobaron la versión final del artículo.

Referencias

1. Alexander, A., Ajazuddin, N., Patel, R. J., Saraf, S., & Saraf, S. (2016). Recent expansion of pharmaceutical nanotechnologies and targeting strategies in the field of phytopharmaceuticals for the delivery of herbal extracts and bioactives. *Journal Of Controlled Release*, *241*, 110-124. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.09.017

2. Cruz, J. E. (2014). *Determinación de fenoles y flavonoides en extractos de hojas de plantas con actividad antioxidante empleando espectroscopia FTIR y análisis multivariado* [Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional, CIBA, Tlaxcala].

3. Cuesta, O., Márquez, I., & Campo, M. (2015). *Introducción a la caracterización estructural de flavonoides*. Universidad Técnica de Machala.

4. Dasilva, A., Deandrade, J., Bevilaqua, L., Desouza, M., Izquierdo, I., Henriques, A., & Zuanazzi, J. (2006). Anxiolytic-, antidepressant- and anticonvulsant-like effects of the alkaloid montanine isolated from Hippeastrum vittatum. Pharmacology Biochemistry And Behavior, 85(1), 148-154. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.07.027

5. Díaz-Montes, E., Cerón-Montes, G. I., & Vargas-León, E. A. (2023). Encapsulación de compuestos bioactivos: una revisión sistemática. PÄDI Boletín Científico de Ciencias Básicas E Ingenierías del ICBI, 10(20), 17-28. https://doi.org/10.29057/icbi.v10i20.9575

6. Espada Domínguez, L., Ferrer Serrano, A., Padró Rodríguez, L., Arias Rosales, L., & León Duharte, L. (2020). *Dendropanax arboreus: Estudio fitoquímico de la savia del tronco*. Revista Cubana de Química, 32(1), 74-87.

7. Estrada-Reyes, R., Ubaldo-Suárez, D., & Araujo-Escalona, A. G. (2012). Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. Salud Mental, 35(5), 375-384. https://www.medigraphic.com/pdfs/salmen/sam-2012/sam125d.pdf

8. Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. (2012). Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. Food And Bioprocess Technology, 6(3), 628-647. https://doi.org/10.1007/s11947-012-0944-0

9. Figueroa-Robles, A., Antunes-Ricardo, M., & Guajardo-Flores, D. (2020). Encapsulation of phenolic compounds with liposomal improvement in the cosmetic industry. International Journal Of Pharmaceutics, 593, 120125. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120125

10. Gamage, E., Orr, R., Travica, N., Lane, M. M., Dissanayaka, T., Kim, J. H., Grosso, G., Godos, J., & Marx, W. (2023). Polyphenols as novel interventions for depression: Exploring the efficacy, mechanisms of action, and

implications for future research. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 151, 105225. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105225

11. Haq, S., Grondin, J. A., & Khan, W. I. (2021). Tryptophan-derived serotonin-kynurenine balance in immune activation and intestinal inflammation. The FASEB Journal, 35(10). https://doi.org/10.1096/fj.202100702r

12. Jaudoin, C., Gehrke, M. M., Grillo, I., Cousin, F., Ouldali, M., Arteni, A., Ferrary, E., Siepmann, F., Siepmann, J., Simelière, F., Bochot, A., & Agnely, F. (2023). Release of liposomes from hyaluronic acid-based hybrid systems: Effects of liposome surface and size. International Journal Of Pharmaceutics, 648, 123560. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.123560

13. Lindner LH, Hossann M. Factors affecting drug release from liposomes. Curr Opin Drug Discov Devel. (2010) Jan;13(1):111-23. PMID: 20047152.

14. Matos, S., Legrá, S., Ortega, G. M., Bermello, A., Guerra, M., Michelena, G. L., … & Crespo, D. (2007). Estudios de separación y caracterización de pigmento en caldos de fermentación de Botryodiplodia theobromae. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 41(3), 27-34.

15. Molendijk, M. L., & De Kloet, E. R. (2015). Immobility in the forced swim test is adaptive and does not reflect depression. Psychoneuroendocrinology, 62, 389-391. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.08.028

16. Murakami, T., Yamane, H., Tomonaga, S., & Furuse, M. (2008). Forced swimming and imipramine modify plasma and brain amino acid concentrations in mice. European Journal Of Pharmacology, 602(1), 73-77. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.10.049

17. Nechita, M., Toiu, A., Benedec, D., Hanganu, D., Ielciu, I., Oniga, O., Nechita, V., & Oniga, I. (2023). Agastache Species: A Comprehensive Review on Phytochemical Composition and Therapeutic Properties. Plants, 12(16), 2937. https://doi.org/10.3390/plants12162937

18. Pereira, V. A., De Arruda, I. N. Q., & Stefani, R. (2014). Active chitosan/PVA films with anthocyanins from Brassica oleraceae (Red Cabbage) as Time–Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. Food Hydrocolloids, 43, 180-188. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.014

19. Porsolt, R. D., Pichon, M. L., & Jalfre, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. Nature, 266(5604), 730-732. https://doi.org/10.1038/266730a0

20. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. (1977). Arch Int Pharmacodyn Ther. Oct;229(2):327-36.

21. Ribeiro, A. M., Shahgol, M., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2020). Microencapsulation of Vitamin A by spray-drying, using binary and ternary blends of gum arabic, starch and maltodextrin. Food Hydrocolloids, 108, 106029. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106029

22. Robles Molina, H., & Sanchez Meza, J. C. (2014). Estudio Del Efecto Antidepresivo De Imipramina En Combinación Con Rapamicina (Neuroprotector) En El Modelo De Depresión Inducida Por El Nado Forzado.

23. Tolve, R., Galgano, F., Caruso, M. C., Tchuenbou-Magaia, F. L., Condelli, N., Favati, F., & Zhang, Z. (2016). Encapsulation of health-promoting ingredients: applications in foodstuffs. International Journal Of Food

Sciences And Nutrition, 67(8), 888-918. https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1205552

24. Xu, Y., Ku, B., Yao, H., Lin, Y., Ma, X., Zhang, Y., & Li, X. (2005). The effects of curcumin on depressive-like behaviors in mice. European Journal Of Pharmacology, 518(1), 40-46. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.06.002

25. Zuniga, M. I. J., Mariles, A. J. H., Flores, J. L. C., Herrera, J. A. M., Sotelo, M. G. R., Montes, G. I. C., & De las Mercedes Gomez y Gomez, Y. (2019). Antidepressant-Like Effects of Dracocephalum moldavica L. in Mouse Models of Immobility Tests. Pharmacognosy Journal, 11(5), 976-983. https://doi.org/10.5530/pj.2019.11.154