

# Presentación de proyectos de investigación ante Consejo Divisional de la DCNI

## 1. Portada:

Fecha de presentación del proyecto	16/10/2025
Sesión de Consejo de aprobación	
Clave del proyecto asignada por Consejo Divisional	

### 1.1 Título del proyecto.

Efecto de extractos y moléculas obtenidas de productos naturales y síntesis química sobre la mejora cognitiva y mecanismos moleculares asociados a la enfermedad de Alzheimer

### 1.2 Línea de investigación del Cuerpo Académico o Grupo de Investigación, o de Posgrado.

El cuerpo académico de Fisicoquímica y diseño molecular, del que soy integrante, involucra las Líneas de Generación y Aplicación del Conocimiento en las que se desarrolla el proyecto.

- a. Síntesis molecular. En esta línea se desarrollan proyectos de investigación en ciencia básica y aplicada enfocados a la generación de nuevas técnicas y metodologías para la obtención de moléculas novedosas.
- b. Ingeniería y diseño molecular. En esta línea se desarrollan proyectos de investigación en ciencia básica y aplicada centrados en el diseño teórico-experimental y en la implementación de sistemas moleculares con potencial para resolver problemas de interés biológico o industrial.

### 1.3 Responsable del proyecto, participantes y adscripción de cada uno.

#### Responsable del proyecto:

**Dra. Perla Yolanda López Camacho.** Departamento de Ciencias Naturales, UAM-Cuajimalpa.

#### Participantes:

- a) Dr. Melchor Martínez Herrera. Departamento de Procesos y Tecnología, UAM-Cuajimalpa.
- b) Dra. Herlinda Bonilla Jaime. Departamento de Biología de la Reproducción, UAM-Iztapalapa
- c) Dr. Carlos Alberto Cruz Hernández. Posdoctorado adscrito al Departamento de Ciencias Naturales, UAM-Cuajimalpa.

**Participantes externos:**

- a) Dr. Gustavo Basurto Islas. División de Ciencias e Ingenierías, Campus León. Universidad de Guanajuato.
- b) Dra. Lizeth Mariel Zavala Ocampo, investigadora posdoctoral, Universidad de Guanajuato.

**1.4 Orientación:**

- Investigación básica ( X )
- Investigación aplicada ( )
- Desarrollo o adaptación ( )
- Transferencia de tecnología ( )
- Desarrollo de tecnología ( )
- Otros ( ), especificar: \_\_\_\_\_

**1.5 Fecha de inicio y duración**

Octubre de 2025, con una duración de 3 años.

## **2. Propuesta:**

### **2.1 Resumen.**

Existen plantas que se han descrito en la medicina tradicional como potenciadoras de la memoria. Nuestro grupo de investigación ha sido el primero en demostrar, mediante un modelo *in vivo*, que *Petiveria alliacea*: i) mejora el deterioro cognitivo inducido por escopolamina, ii) reduce el estrés oxidativo, iii) inhibe la actividad de la acetilcolinesterasa, y iv) no presenta toxicidad en el organismo tratado. Asimismo, en modelos *in vitro* hemos identificado su capacidad para v) inhibir la fibrilación del péptido  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A), sin comprometer la viabilidad celular.

Por otro lado, al evaluar diversos fullerenos funcionalizados hemos descrito su capacidad para inhibir la agregación proteica patogénica relacionada a enfermedades neurodegenerativas, especialmente la enfermedad de Alzheimer.

Con base en estos hallazgos, el presente proyecto propone una continuación en la evaluación de los efectos de productos naturales y moléculas obtenidas por síntesis química, en modelos *in vitro* e *in vivo*, con el fin de determinar su potencial para mejorar los procesos cognitivos y reducir la patología neurofibrilar asociada a la enfermedad, así como esclarecer su mecanismo de acción, mediante pruebas conductuales, análisis bioquímicos e histopatológicos.

Los resultados de este estudio contribuirán a la generación de evidencia preclínica que respalde el uso de productos naturales y moléculas sintetizadas como posibles alternativas terapéuticas para la EA.

### **2.2 Antecedentes.**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo progresivo e irreversible caracterizado por alteraciones cognitivas, entre las que destaca la pérdida de memoria (Barage y Sonawane, 2015; Ayaz et al., 2017).

*Petiveria alliacea*, una planta herbácea perenne perteneciente a la familia Phytolaccaceae, ha sido tradicionalmente utilizada en comunidades amazónicas de Brasil como potenciador de la memoria, según estudios etnobotánicos (Mors et al., 2000). Hasta 2021, existían únicamente dos estudios que respaldaban dicha actividad: Mors et al. (2000) demostraron que el extracto acuoso de hojas mejora la memoria a largo plazo, mientras que Silva et al. (2015) confirmaron este efecto mediante la administración de un extracto hidroalcohólico a

900 mg/kg, observando mejoras tanto en la memoria como en el aprendizaje. Sin embargo, ninguno de estos estudios profundizó en los mecanismos moleculares implicados.

Nuestro grupo de investigación fue el primero en demostrar, en un modelo murino, que *P. alliacea* atenúa el deterioro cognitivo inducido por escopolamina, describiendo mecanismos clave como la inhibición de la acetilcolinesterasa y la protección frente al estrés oxidativo, ambos procesos involucrados en la fisiopatología de la EA. Asimismo, mediante estudios toxicológicos, se confirmó su seguridad incluso en dosis elevadas (Zavala-Ocampo et al., 2022; Zavala-Ocampo et al., 2023).

Recientemente, nuestro grupo también identificó que *P. alliacea* inhibe la agregación del péptido  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A), tanto en un modelo de agregación in vitro (ensayo con tioflavina T), como en un modelo *in cellulo* utilizando células de neuroblastoma humano. Estos hallazgos, actualmente en proceso de publicación, aunado a los estudios previos, sugieren fuertemente el potencial terapéutico de *P. alliacea* frente a la EA.

No obstante, hasta el momento no existen estudios que evalúen directamente su efecto sobre el deterioro cognitivo y la patología característica de la EA en un modelo transgénico validado. Por ello, su análisis en un modelo murino como el ratón 5xFAD permitirá obtener evidencia concluyente sobre su impacto en la fisiopatología de la enfermedad, así como sobre los mecanismos moleculares involucrados.

Por su parte, los fullerenos y sus derivados se han aplicado ampliamente en el campo de la medicina. Los derivados de fullereno se han caracterizado como inhibidores del virus de la inmunodeficiencia humana (Mashino et al., 2005), agentes de contraste para imágenes de resonancia magnética (Bolskar et al., 2003), antioxidantes (Gharbi et al., 2005), agentes antibacterianos (Mashino et al., 2003). También son útiles como vectores dirigidos al hueso mineralizado (González, 2002) y sensibilizadores para la terapia fotodinámica (Fiorenza Rancan et al., 2005).

Estudios recientes realizados por nuestro grupo, han demostrado qué aductos del C60 conteniendo de 1 a 6 sustituyentes dietilmalonato y sus respectivas sales de sodio son capaces de inhibir la agregación del P $\beta$ A, mostrando la sal del bisaducto y tetraducto la más alta capacidad inhibitoria y además una alta biocompatibilidad con células de neuroblastoma humano (Melchor et al., 2018; Martínez-Herrera et al., 2022).

## 2.3 Objetivo general y objetivos particulares.

### Objetivo general:

Evaluar el efecto terapéutico de extractos de productos naturales y moléculas obtenidas por síntesis química en modelos *in vitro* e *in vivo* de la EA, para determinar su potencial en el mejoramiento cognitivo, su capacidad de disminuir la patología asociada e identificar los posibles mecanismos moleculares involucrados.

### Objetivos particulares:

1. Obtener, procesar e identificar los metabolitos presentes en *Petiveria alliacea* para establecer el perfil químico de los compuestos bioactivos.
2. Sintetizar fullerenos funcionalizados.
3. Administrar extractos y moléculas sintetizadas en un modelo murino de la EA, para evaluar sus efectos sobre la memoria y el aprendizaje.
4. Analizar los cambios bioquímicos e histopatológicos en el tejido cerebral de animales tratados con los extractos o moléculas sintetizadas, para determinar su efecto en la reducción de la neuropatología asociada a la EA.
5. Proponer posibles mecanismos de acción molecular mediante los cuales los compuestos bioactivos podrían contribuir a la modulación de los procesos fisiopatológicos de la EA.

## 2.4 Descripción

### Hipótesis:

Los compuestos obtenidos de productos naturales o por síntesis química mejoran los procesos cognitivos y reducen la neuropatológica en modelos *in vitro* e *in vivo* de la EA, mediante la modulación de procesos moleculares clave como la agregación del  $\beta$ A, el estrés oxidativo y la inhibición de la acetilcolinesterasa

### Materiales y métodos

A continuación, se describe brevemente la metodología que se propone emplear en este proyecto, cabe mencionar que, nuestro grupo de investigación tiene experiencia en todos los protocolos descritos a lo largo de las diferentes etapas del proyecto, por lo que no será necesario invertir tiempo en estandarizaciones

### Material vegetal

Las hojas de *P. alliacea* se recolectarán en el municipio de Catemaco, Veracruz, México entre las coordenadas 18°21'51" N y 95°05'27" O. Las hojas de *P. alliacea* se secarán a temperatura ambiente y a la sombra, y se molerán para su procesamiento.

El extracto metanólico se obtendrá utilizando un sistema de extracción sólido-líquido líquido. Posteriormente el extracto se fraccionará con disolventes de polaridad creciente (hexano, AcOEt y MeOH) siguiendo la metodología descrita por Zavala-Ocampo et al., 2022

### Síntesis de bisaductos

La síntesis de bisaductos del fullereno C<sub>60</sub> con el sustituyente dietil malonato se llevará a cabo mediante una reacción de tipo Bingel-Hirsch modificada, la reacción involucra la formación de un anillo de ciclopropano en la superficie del fullereno. Para ello se utiliza un compuesto precursor conocido como malonato que reacciona con el C<sub>60</sub> en presencia de una base fuerte.

### Establecimiento del modelo *in vivo* y pruebas conductuales

En todo momento, se seguirán los lineamientos de bioética Internacional y Nacional (NOM-062-ZOO-1999) para el cuidado y uso de animales de laboratorio y el protocolo será sometido al comité de ética correspondiente.

Para las pruebas *in vivo* se utilizarán ratones macho transgénicos de la EA (5xFAD) de 3 meses de edad. Serán administrados tres veces por semana durante 3 meses vía esofágica.

Al término de la administración del extracto o moléculas sintetizadas, se realizarán pruebas de comportamiento para evaluar sus funciones cognitivas y con ello determinar su aprendizaje y memoria, para ello se usarán las pruebas: laberinto en Y, laberinto acuático de Morris y reconocimiento de objetos nuevos.

### Evaluación de la toxicidad aguda (DL50)

Para saber si los extractos y/o compuestos sintetizados son seguros, específicamente para el ratón 5xFAD, se evaluará la toxicidad oral aguda con base en el protocolo de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE, 2001). Para ello se administrarán los ratones con una dosis única de 300 mg/kg a tres ratones y posteriormente al no observar muerte, la dosis se aumentará gradualmente hasta 2000 mg/kg. Se registrarán los efectos tóxicos durante los primeros 30 minutos y cada 2 horas durante el primer día, después, diariamente hasta completar 14 días. Pasados los 14 días los ratones

serán sacrificados y se les realizará una necropsia para observar daños a nivel macroscópico en bazo, estómago, riñones e hígado

#### Preparación del tejido cerebral

Al término de las pruebas de comportamiento, los ratones serán sacrificados por dislocación cervical y los cerebros serán extraídos inmediatamente por craneotomía. Una vez extraído el cerebro, un hemisferio será fijado en paraformaldehído y el del otro hemisferio se aislará corteza e hipocampo, y serán almacenados a -70 °C hasta su uso para los análisis bioquímicos.

#### Pruebas bioquímicas

- 1) La actividad inhibitoria de AChE se determinará espectrofotométricamente de acuerdo con una versión modificada del método de Ellman (Ellman et al., 1961).
- 2) El ensayo de la actividad antioxidante se llevará a cabo por los métodos de DPPH y ABTS
- 3) El contenido de glutatión total (GSH) se medirá a partir de sobrenadante de homogeneizado de cerebro usando el kit comercial Glutathione assay (CS0260, Sigma-Aldrich), siguiendo las instrucciones del fabricante.
- 4) El contenido de malondialdehído (MDA nmol/mg de proteína) se medirá como indicador de peroxidación lipídica según el método de Ohkawa (Ohkawa et al., 1979).

#### Análisis por electroforesis y western blot

Se realizarán SDS-PAGE de homogenados de corteza e hipocampo cerebral para determinar la integridad de las proteínas. Posteriormente se realizará el análisis bioquímico de identificación de proteínas mediante la técnica de western blot.

Las membranas se incubarán con anticuerpos primarios que identifiquen el efecto de las moléculas sobre procesos de memoria y aprendizaje como: sinapsina, PSD95, NMDA-R, etc., así como aquellos relacionados con la patología de la EA, las diferentes variantes de tau fosforilada, neuroinflamación, etc. Posteriormente, las membranas se incubarán con los respectivos anticuerpos secundarios y finalmente se revelarán utilizando un kit de revelado quimioluminiscente de HRP.

#### Inmunohistoquímica y microscopía confocal

El tejido cerebral fijado será embebido en parafina, cortado en rebanadas y montando en portaobjetos para su posterior análisis por inmunomarcaje. Para determinar el efecto de *P. alliacea* en la patología de la EA, se realizará inmunoperoxidasa e inmunofluorescencia de acuerdo el tipo de análisis requerido.

Para el caso de la inmunofluorescencia el protocolo será equivalente, pero sustituyendo algunos pasos y utilizando anticuerpos secundarios acoplados a marcadores fluorescentes, las muestras serán analizadas por microscopía de fluorescencia confocal (Leica-TCS-SP2).

#### Análisis estadístico

Los datos se analizarán mediante ANOVA de una vía seguido de una prueba post hoc de Dunnett utilizando el programa GraphPad Prism versión 8 para Windows. Los datos se expresarán como la media  $\pm$  SD de seis animales en los modelos in vivo y tres repeticiones en pruebas in vitro de cada animal. Los valores de  $P < 0.05$  se considerarán estadísticamente significativos.

### **2.5 Formación de recursos humanos.**

Se propone involucrar:

2 servicios sociales  
2 alumnos de licenciatura (PT)  
2 alumnos de nivel Posgrado

### **2.6 Productos esperados.**

Se proponen como productos:

- Participación en eventos de divulgación de la ciencia.
- Incorporar alumnos de Licenciatura (proyectos terminales, servicio social) y Posgrado
- Participación en foros especializados en los temas, tanto locales como nacionales e internacionales.
- Publicación de al menos dos artículos científicos en revistas internacionales indexadas (original y de revisión)

### **2.7 Impacto esperado del proyecto (problemática nacional abordada).**

De acuerdo con los Programas Nacionales Estratégicos (Pronaces) establecidos por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (Conahcyt) en México, el presente proyecto se alinea a la Pronaces: Salud.

La investigación en enfermedades neurodegenerativas impacta directamente en la mejora de la calidad de vida, especialmente en adultos mayores, cuya proporción poblacional va en aumento. Este proyecto busca generar propuestas terapéuticas



basadas en compuestos bioactivos dirigidos al tratamiento de la EA, más allá de tratamientos paliativos y empleando productos naturales y nanopartículas sintetizadas al alcance de la población y sin efectos colaterales. Además, se impulsa la colaboración interdisciplinaria, la formación de recursos humanos especializados y la divulgación científica, fomentando la transferencia del conocimiento hacia la sociedad y promoviendo el bienestar a través de la ciencia.

## 2.8 Recursos necesarios para el proyecto:

- Financiamiento e infraestructura física y humana actual en el proyecto.

Presupuesto departamental (DCN)

Presupuesto de los colaboradores externos (Proyectos institucionales)

Infraestructura física: Síntesis química, procesamiento de productos naturales, evaluaciones *in vitro*, etc. Laboratorio de Química y Farmacología, UAM-Cuajimalpa; evaluaciones *in vitro*. Departamento de Biología de la Reproducción UAM-Iztapalapa; evaluaciones bioquímicas y biología molecular, Laboratorio Biotecnología Aplicada a la Salud, Universidad de Guanajuato

- Fuentes de financiamiento externas.

El proyecto será sometido a Convocatorias para financiamientos internos y externos

## 3. Calendario de actividades en períodos trimestrales

Actividades	Trimestres								
	I	II	II	IV	V	VI	VII	VII	IX
Colecta y procesamiento de la planta	X	X	X						
Síntesis de fullerenos funcionalizados	X	X	X						
Evaluación del efecto de moléculas sobre procesos cognitivos en un modelo animal de la EA				X	X	X			

Evaluación de la inhibición de la agregación y/o la toxicidad del péptido $\beta$ A en cultivos de neuroblastoma generada por las moléculas				X	X	X			
Análisis bioquímico en los cerebros de ratones tratados con las moléculas y/o extractos							X	X	X
Análisis histopatológico por inmunomarcaje y microscopia confocal							X	X	X

#### 4. Información para el seguimiento del proyecto:

##### 4.1 Calendarización de productos esperados a lo largo del proyecto.

Producto	Año 1	Año 2	Año 3
<b>Formación de recursos humanos nivel licenciatura</b>			
Servicio Social	X	X	
Proyecto terminal	X	X	
Tesis de licenciatura			
<b>Formación de recursos humanos posgrado</b>			
Especialización	X		
Maestría		X	
Doctorado			X
<b>Publicaciones</b>			
Artículos		X	X
Capítulos de libro			
Memorias o Proceedings			
<b>Difusión o Divulgación</b>			
Congresos	X	X	X
Conferencias			
<b>Otros</b>			

## 4.2 Resultados esperados

Se espera establecer el efecto de los productos naturales y moléculas obtenidas por síntesis química, y evaluados sobre modelos *in vitro* e *in vivo*, en las funciones cognitivas. Se documentarán cambios bioquímicos e histopatológicos indicativos de reducción en la neuropatología y mejoramiento cognitivo. Finalmente, se propondrán mecanismos moleculares que expliquen la acción terapéutica observada.

Se propone aportar al conocimiento científico básico, difundir los resultados en foros especializados y revistas indizadas, formar recursos humanos en los diferentes niveles y divulgación de la ciencia.

## Referencias

- Ayaz, M., Sadiq, A., Junaid, M., Ullah, F., Subhan, F., Ahmed, J., 2017. Neuroprotective and anti-aging potentials of essential oils from aromatic and medicinal plants. *Front. Aging Neurosci.* 9, 168. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00168>.
- Barage, S.H., Sonawane, K.D., 2015. Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Neuropeptides* 52, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2015.06.008>
- Bolskar, R. D.; Benedetto, A. F.; Husebo, L. O.; Price, R. E.; Jackson, E. F.; Wallace, S.; Wilson, L. J.; Alford, J. M. First soluble M@C60 derivatives provide enhanced access to metallofullerenes and permit in vivo evaluation of Gd@C60[C(COOH)2]10 as a MRI contrast agent. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 5471-5478.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Gharbi, N.; Pressac, M.; Hadchouel, M.; Szwarc, H.; Wilson, S. R.; Moussa, F. Fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity. *Nano Lett.*, 2005, 5, 2578-2585.
- Gonzalez, K. A.; Wilson, L. J.; Wu, W.; Nancollas, G. H. Synthesis and *in vitro* characterization of a tissue-selective fullerene: vectoring C(60)(OH)(16)AMBP to mineralized bone. *Bioorg. Med. Chem.*, 2002, 10, 1991-1997.
- Martínez-Herrera, M., Figueroa-Gerstenmaier, S., López-Camacho, P. Y., Millan-Pacheco, C., Balderas-Altamirano, M. A., Mendoza-Franco, G., ... & Basurto-Islas, G. (2022). Multiadducts of C60 modulate amyloid- $\beta$  fibrillation with dual acetylcholinesterase inhibition and antioxidant properties: in vitro and in silico studies. *Journal of Alzheimer's Disease*, 87(2), 741-759.
- Mashino T, Shimotohno K, Ikegami N, Nishikawa D, Okuda K, Takahashi K, et al. Human immunodeficiency virus-reverse transcriptase inhibition and hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase inhibition activities of fullerene derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2005 Feb;15(4):1107–9.

- Mashino, T.; Nishikawa, D.; Takahashi, K.; Usui, N.; Yamori, T.; Seki, M.; Endo, T.; Mochizuki, M. Antibacterial and antiproliferative activity of cationic fullerene derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003, 13, 4395-4397.
- Melchor M-H, Susana F-G, Francisco G-S, Hiram I. B, Norma R-F, Jorge A. L-R, et al. Fullerenemalonates inhibit amyloid beta aggregation, *in vitro* and in silico evaluation. *RSC Advances*. 2018;8(69):39667–77.
- Mors, W. B., Rizzini, C. T., Pereira, N. A., 2000. Medicinal plants of Brazil. Reference Publications, Inc.
- OECD, 2001. OECD guideline for testing of chemicals. In: Acute Oral Toxicity-Fixed Dose Procedure. OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264070943-en>.
- Silva, M.L., Luz, D.A., Paixão, T.P. da, Silva, J.P.B., Belém-Filho, I.J.A., Fernandes, L.M.P., Gonçalves, A.C.B., Fontes-Júnior, E.A., de Andrade, M.A., Maia, C.S.F., 2015. Petiveria alliacea exerts mnemonic and learning effects on rats. *J. Ethnopharmacol.* 169, 124–129. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2015.04.005>
- Zavala-Ocampo, L. M., López-Camacho, P. Y., Aguirre-Hernández, E., Cárdenas-Vázquez, R., Bonilla-Jaime, H. y Basurto-Islas, G. (2023). Neuroprotective effects of Petiveria alliacea on scopolamine-induced learning and memory impairment mouse model. *Journal of Ethnopharmacology*, 318, 116881. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116881>.
- Zavala-Ocampo, L.M., Aguirre-Hernández, E., López-Camacho, P.Y., Cárdenas-Vázquez, R., Dorazco-González, A., Basurto-Islas, G., 2022. Acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity properties of Petiveria alliacea L. *J. Ethnopharmacol.* 292, 115239. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115239>