

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**Evaluación de la capacidad de los extractos de las hojas de
Ipomoea murucoides Roem. & Schult. para reducir los efectos
farmacológicos del veneno de *Poecilotheria regalis* Pocock**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL
GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Lic. Diana Laura Pescador Tovar

DIRIGIDA POR:

Dr. José Alejandro García Arredondo

Querétaro, Qro. a 4 de septiembre de 2024

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



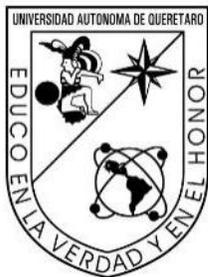
SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**

**Evaluación de la capacidad de los extractos de las hojas de
Ipomoea murucoides Roem. & Schult. para reducir los
efectos farmacológicos del veneno de *Poecilotheria regalis*
Pocock**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Lic. Diana Laura Pescador Tovar

DIRIGIDA POR:

Dr. José Alejandro García Arredondo

Dr. José Alejandro García Arredondo
Presidente

Dr. Mamadou Moustapha Bah
Secretario

Dra. Jesica Esther Escobar Cabrera
Vocal

M. en C. José Alejandro Cabrera Luna
Suplente

Dr. José Fernando Lazcano Pérez
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
septiembre 2024
México

ÍNDICE

| | Página |
|---|--------|
| ÍNDICE DE FIGURAS | 4 |
| ACRÓNIMOS | 5 |
| RESUMEN | 6 |
| ABSTRACT | 7 |
| INTRODUCCIÓN | 9 |
| 2. ANTECEDENTES | 12 |
| 2.1 Género <i>Ipomoea</i> | 12 |
| 2.1.1 <i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult. | 14 |
| 2.2 Panorama general de los incidentes con arácnidos | 17 |
| 2.2.2 Arácnidos | 18 |
| 2.2.2.1 Familia Theraphosidae | 19 |
| 2.2.2.2 <i>Poecilotheria regalis</i> Pocock, 1899 | 20 |
| 2.2.3 Epidemiología de lesiones por arácnidos en México | 21 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 22 |
| 4. HIPÓTESIS | 24 |
| 5. OBJETIVOS | 25 |
| 5.1 Objetivo General | 25 |
| 5.2 Objetivos específicos | 25 |
| 6. MATERIALES Y MÉTODOS | 26 |
| 7. RESULTADOS | 31 |
| 8. DISCUSIÓN | 41 |
| 9. CONCLUSIONES | 45 |
| 10. REFERENCIAS | 46 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Nombre | Página |
|--|--------|
| Figura 1. Árbol de <i>Ipomoea murucoides</i> ubicado en la Facultad de Ingeniería, Centro Universitario de la Universidad Autónoma de Querétaro. | 15 |
| Figura 2. Segmentación y estructura principal de arácnidos | 18 |
| Figura 3. Flor de <i>I. murucoides</i> . | 31 |
| Figura 4. Desarrollo de la flor de <i>I. murucoides</i> . | 32 |
| Figura 5. Estructuras reproductivas de <i>I. murucoides</i> . | 33 |
| Figura 6. Comparación morfológica entre hojas juveniles y maduras de <i>I. murucoides</i> . | 34 |
| Figura 7. Efecto inflamatorio del veneno de <i>P. regalis</i> (Prv) en ausencia y presencia de tratamiento con los extractos de <i>I. murucoides</i> . | 35 |
| Figura 8. Inflamación inducida con veneno de <i>P. regalis</i> (40 µg de proteína de veneno disuelta en 50 µl de solución salina fisiológica) en la pata trasera derecha de rata (n =3). | 36 |
| Figura 9. Evaluación de actividad de la hialuronidasa del veneno de <i>P. regalis</i> (Prv, 20 µg/ml) en presencia de los extractos de <i>I. murucoides</i> . | 37 |
| Figura 10. Registro de contracciones espontáneas de íleon aislado de rata Wistar con distintas sustancias. | 39 |
| Figura 11. Diferencia entre la disminución de la tensión entre los tratamientos con veneno (Prv) y veneno incubado con el extracto acuoso (Prv + EA). | 40 |

ACRÓNIMOS

| | |
|-------------------------|--|
| CE₅₀: | Concentración Efectiva Media |
| E_{max}: | Efecto máximo |
| DTNB: | [(5,5'-ditio-bis-(ácido 2-nitrobenzólico)] |
| BCTA: | Hexadeciltrimetilamonio |
| TRU: | Unidad de Turbidez |
| EA | Extracto acuoso |
| EE | Extracto etanólico |
| Prv | Veneno de <i>Poecilotheria regalis</i> |

RESUMEN

El género *Ipomoea* (Familia Convolvulaceae) cuenta con alrededor de 500 a 700 especies, ubicándolo como el género más grande de esta familia. Las especies de este género se encuentran ampliamente distribuidas en el continente americano, principalmente en países de Centroamérica y América del sur. Estas especies se utilizan con fines ornamentales debido a sus flores de colores brillantes con forma característica de campana. Sin embargo, en la medicina tradicional estas plantas se emplean para tratar padecimientos como la artritis, meningitis, hipertensión, diabetes, estreñimiento y reumatismo. Además, algunas de estas especies también han mostrado actividad analgésica, espasmolítica y antiinflamatoria, lo que podría sustentar que sean utilizadas para tratar síntomas de intoxicación generados por el veneno de algunos animales. Considerando el uso potencial de estas especies para tratar el envenenamiento causado por algunas especies venenosas, el objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad que tienen los extractos de diferentes polaridades de las hojas de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult., especie endémica de México, para inhibir algunos de los efectos tóxicos inducidos por el veneno de la tarántula *Poecilotheria regalis* Pocock, 1899. Esta tarántula se caracteriza por generar síntomas de intoxicación neurotóxica y dolor intenso tras la mordedura. Actualmente, no existe un tratamiento para estos síntomas. En este estudio se evaluó el efecto inflamatorio del veneno mediante el ensayo de edema plantar, la actividad de hialuronidasa mediante un método turbidimétrico y la actividad neurotóxica mediante el ensayo de íleon aislado de rata. Dichos efectos se evaluaron en ausencia y en presencia de los extractos de *I. murucoides*, los cuales fueron obtenidos por maceraciones consecutivas con diclorometano, etanol y agua. Debido a dificultades en la solubilidad del extracto con diclorometano, no fue posible realizar sus evaluaciones biológicas. El extracto acuoso de las hojas de *I. murucoides* presentó la capacidad de inhibir la actividad de hialuronidasa del veneno, mientras que el extracto etanólico no presentó este tipo de actividad. Por otro lado, ni el extracto etanólico, ni el extracto acuoso, presentaron la capacidad de inhibir el efecto inflamatorio originado por el veneno. Las evaluaciones sobre la contractilidad del músculo liso intestinal indicaron que el veneno de *P. regalis* produce disminución de las contracciones espontáneas de los segmentos de íleon aislados de rata; dicho efecto no se modificó en presencia de los extractos de *I. murucoides*. En conclusión, los resultados de este estudio muestran que el extracto acuoso de las hojas de *I. murucoides* contiene compuestos capaces de inhibir a las hialuronidasas presentes en el veneno de *P. regalis*, pero no tiene la capacidad para inhibir el efecto inflamatorio ni el efecto neurotóxico de este veneno.

Palabras clave: *Ipomoea murucoides*, *Poecilotheria regalis*, inflamación, hialuronidasa, íleon.

ABSTRACT

The genus *Ipomoea* (family Convolvulaceae) comprises approximately 500 to 700 species, making it the largest genus of this family. The species of this genus are widely distributed in the Americas, mainly in Central and South America. These species are used for ornamental purposes due to their brightly colored flowers with a characteristic bell shape. However, in traditional medicine, these plants are used to treat ailments such as arthritis, meningitis, hypertension, diabetes, constipation, and rheumatism. In addition, some of these species have also shown analgesic, spasmolytic, and anti-inflammatory activity, which could support their use to treat symptoms of poisoning generated by the venom of some animals. Considering the potential use of these species to treat poisoning caused by some venomous species, the objective of this research is to determine the capacity of extracts of different polarities of the leaves of *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult., a species endemic to Mexico, to inhibit some of the toxic effects induced by the venom of the tarantula *Poecilotheria regalis* Pocock, 1899. This tarantula is characterized by generating symptoms of neurotoxic intoxication and intense pain after the bite, which have currently no treatment. In this study, the inflammatory effect of the venom was evaluated by plantar edema assay, hyaluronidase activity by a turbidimetric method, and neurotoxic activity by isolated rat ileum assay. These effects were evaluated in the absence and presence of *I. murucoides* extracts, which were obtained by consecutive macerations with dichloromethane, ethanol and water. Due to difficulties in the solubility of the extract with dichloromethane, it was not possible to carry out its biological evaluations. The aqueous extract of the leaves of *I. murucoides* showed the ability to inhibit the hyaluronidase activity of the venom, whereas the ethanolic extract did not induce this type of activity. On the other hand, neither the ethanolic extract nor the aqueous extract had the capacity to inhibit the inflammatory effect caused by the venom. Evaluations on the contractility of intestinal smooth muscle indicated that *P. regalis* venom produced a decrease in spontaneous contractions of isolated rat ileum segments; this effect was not modified in the presence of *I. murucoides* extracts. In conclusion, the results of this study showed that the aqueous extract of the leaves of *I. murucoides* contains compounds capable of inhibiting the hyaluronidases of *P. regalis* venom but does not have the capacity to inhibit the inflammatory effect nor the neurotoxic effect of this venom.

Keywords: *Ipomoea murucoides*, *Poecilotheria regalis*, inflammation, hyaluronidase, ileum.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación titulada “**Evaluación de la capacidad de los extractos de las hojas de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. para reducir los efectos farmacológicos del veneno de *Poecilotheria regalis* Pocock**” fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Diana Laura Pescador Tovar', is written over a light blue grid background.

Lic. Biol. Exp. Diana Laura Pescador Tovar

1. INTRODUCCIÓN

El género *Ipomoea* pertenece a la familia Convolvulaceae. De algunos representantes de las convolvuláceas, se han aislado productos naturales con propiedades biológicas como actividad citotóxica, antimicrobiana, antimetastásica, antiproliferativa, neuroprotectora y anticonvulsiva; así mismo, efectos sedantes, antiinflamatorios y antibacterianos han sido evaluados en glicósidos de resinas aislados de miembros de esta familia (Fernández-Puga *et al.*, 2019; Maharani *et al.*, 2022). Dentro de la medicina tradicional, se reportan en este género efectos positivos contra afecciones como cólicos, reumatismo y tratamiento de úlceras (Beheshti *et al.*, 2021). Una especie reconocida por tratar dolencias cutáneas es *Ipomoea muricata* (L.) Jacq., la cual ha sido empleada por pobladores filipinos para tratar heridas gangrenosas, cortes en la piel y ampullas producidas por quemaduras (Meira *et al.*, 2012).

Las especies pertenecientes al género *Ipomoea* también son aprovechadas por la propiedad de neutralizar síntomas generados por la actividad tóxica de venenos de algunos animales tales como escorpiones y medusas. Algunas especies que han mostrado esta propiedad son *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., de la cual pescadores tailandeses extraen el zumo de las hojas para tratar la dermatitis producida por la picadura de medusas, ya que el extracto actúa como agente antipruritogénico (Silva *et al.*, 2017). Además, la aplicación de las hojas calientes sobre la piel ha mostrado efecto en el alivio de infecciones en la piel, dolor y lesiones generadas por peces venenosos, mantarrayas e insectos (Pereda-Miranda *et al.*, 2005). *Ipomoea aquatica* Forsk. ha sido utilizada contra veneno de escorpión (Uawonggul *et al.*, 2006). De *Ipomoea campanulata* L., se reporta el uso de sus semillas como antídoto contra el veneno de serpiente (Singh *et al.*, 2003). México cuenta con la presencia de la especie *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult., que es empleada para contrarrestar el efecto de intoxicación por picadura de alacrán. A esta misma especie, se le atribuyen propiedades contra inflamación causada por golpes y sus hojas son una fuente de compuestos con actividad insecticida (Valencia Diaz *et al.*, 2021).

Tomando en cuenta estas propiedades, en años recientes, la búsqueda de compuestos en especies vegetales que ayuden a contrarrestar los efectos tóxicos de venenos de diversos animales ha cobrado relevancia. Esto se debe principalmente a que la producción de antisueros, también llamados antivenenos, generalmente presenta altos costos (Camperi *et al.*, 2020). Sumado a esto, la aplicación de antivenenos requiere personal médico capacitado. La gran mayoría de esos sueros son producidos en equinos; implicando una naturaleza heteróloga que podría desencadenar reacciones adversas en el paciente receptor, incluso cuando este ya ha mostrado efectividad en la neutralización de veneno de alacranes y arañas (Laustsen *et al.*, 2016).

Pocos estudios han sido realizados con la finalidad de comprobar la actividad de las especies del género *Ipomoea* contra los efectos provocados por el envenenamiento. Sin embargo, se destacan los resultados obtenidos de algunas especies como el caso de *I. pes-caprae*, de la cual se ha evaluado el extracto preparado con éter de petróleo a partir de las hojas para el análisis de la neutralización de la actividad hemolítica y proteolítica de distintos venenos de medusa (Pongprayoon *et al.*, 1991). Otro estudio evaluó el extracto acuoso de las hojas de *Ipomoea asarifolia* (Desr.) Roem. & Schult. contra el efecto inflamatorio de veneno de alacrán; en este se mostró que ocurriría un efecto neutralizante y disminución de la migración de células implicadas en la respuesta inmune (Lima *et al.*, 2014). Por último, un estudio realizado con el extracto metanol-agua de hojas de *Ipomoea imperati* (Vahl) Griseb. presentó actividad antiinflamatoria y antiespasmódica, e inhibición de fosfolipasa A₂ purificada del veneno de abeja en ensayos *in vitro* (Paula *et al.*, 2003).

Adicionalmente, algunos otros estudios realizados en especies de este género se han dedicado a evaluar el potencial que tienen para tratar padecimientos como la fiebre y presencia de parásitos intestinales (Meira *et al.*, 2012), cáncer (Taylor *et al.*, 2017) y hemorragias (Valencia Diaz *et al.*, 2021), esto debido a que se han reportado efectos positivos en la evaluación de su actividad antimicrobiana y analgésica (Meira *et al.*, 2012).

Dentro de los animales que cuentan con la capacidad de producir veneno, se encuentran las tarántulas, que forman parte de la familia Theraphosidae y son

fácilmente identificadas por su gran tamaño (García-Arredondo *et al.*, 2015). El género *Poecilotheria* destaca de esta familia debido a que su veneno es considerado como de importancia clínica (Fuch *et al.*, 2014). La composición mayoritaria del veneno de estas tarántulas está formada por péptidos que afectan principalmente canales iónicos del sistema nervioso central o periférico; la aparición de calambres musculares tardíos es una característica muy particular de la intoxicación por mordedura de especies del género *Poecilotheria* (Fuch *et al.*, 2014). Considerando el potencial que tienen las especies del género *Ipomoea* para contrarrestar los efectos tóxicos de algunos venenos, en el presente estudio se evaluó el efecto de los extractos de distintas polaridades de las hojas de *Ipomoea murucoides* sobre la actividad enzimática de hialuronidasa, así como en los efectos inflamatorio y neurotóxico inducidos por el veneno de la tarántula *Poecilotheria regalis* Pocock, 1899.

2. ANTECEDENTES

2.1 Género *Ipomoea*

Se estima que la familia Convolvulaceae agrupa entre 1500 a 1650 especies, de las cuales el género *Ipomoea* alberga entre 500 a 700 de estas, correspondiente al 42.4% aproximado, convirtiéndolo en el de mayor abundancia de la familia. En su mayoría, las especies pertenecientes a este género son enredaderas herbáceas; en menor medida, son leñosas arbustivas y arborescentes. Algunas especies presentan flores con corola campanulada, lo que les ha imputado nombres coloquiales con los que se conocen entre la población como campanillas, campanitas, mantos, gloria de la mañana y quiebra platos, y de ella se genera un fruto en forma de cápsula (Valencia Díaz *et al.*, 2021).

Aunque algunas especies han sido estudiadas por sus interacciones con otros organismos, también se encuentran aquellas que presentan utilidad para el ser humano, ya sea como alimento como *Ipomoea batatas* (L.) Lam., que es considerada una de las especies más representativas por la producción de tubérculos comestibles; en la agricultura como *Ipomoea murucoides* que cuenta con actividad insecticida contra el gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) (Valencia Díaz *et al.*, 2021); o para uso ornamental como *Ipomoea purpurea* (L.) Roth. que presenta flores coloridas muy llamativas.

Uno de los puntos que adquieren relevancia, es aquel en el cual se destaca que entre los usos tradicionales de especies de *Ipomoea*, se reporta el potencial que presenta el género como fuente de agentes terapéuticos contra enfermedades como diabetes, hipertensión, constipación, artritis, reumatismo e inflamación (Srivastava *et al.*, 2020).

La actividad biológica que presenta este género ha sido estudiada desde los años cincuenta, mostrando que algunas especies brindan actividad analgésica, espasmolítica, espasmogénica, antimicrobial, psicotomimética, hipotensora y anticancerígena (Meira *et al.*, 2012). Se especula que dichas actividades podrían ser el resultado de la presencia de los compuestos activos producidos por estas plantas, de entre los que destacan los alcaloides (ergolínicos, de indolizidina y nortropano), compuestos fenólicos, cumarinas, diterpenos, norisoprenoides,

flavonoides, lignanos, antocianócidos y benzenoides (Srivastava *et al.*, 2020), por mencionar solo algunos, ya que a esta lista se suma una gran variedad de componentes con actividad potencial contra varios padecimientos.

Como punto importante de la relevancia de las especies de este género, es posible mencionar algunos ejemplos. Como parte de ellos, se cuenta con estudios en los que extractos de la especie *Ipomoea purpurea* mostraron un efecto en el tratamiento contra algunos tipos de cáncer, exhibiendo variaciones en los niveles de actividad en la ruta de apoptosis en líneas celulares de cáncer de mama, pulmón e hígado (Beheshti *et al.*, 2021).

Por otra parte, especies costeras como *Ipomoea stolonifera* (Cirillo) J.F. Gmel. e *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., son representantes empleadas en la medicina tradicional china tradicional por brindar efectos antiinflamatorios y, adicional a esto, *Ipomoea pes-caprae* parece tener actividad antinociceptiva (alteración en la respuesta a estímulos generalmente dañinos) y ser empleada para tratar reumatismo (Cai *et al.*, 2014; Alvarez Barajas *et al.*, 2023).

Según S. Wasuwat (1970), hasta la fecha de la publicación de su artículo “*Extract of Ipomoea pes-caprae (Convolvulaceae) antagonistic to Histamine and Jelly-fish Poison*” no se encontraban reportes que indicaran efectos farmacológicos provenientes de especies pertenecientes a esta familia. Sin embargo, al desarrollar una investigación del posible efecto antihistamínico y acción antagónica de extractos de *Ipomoea pes-caprae* contra el veneno de medusa, se logró demostrar que efectivamente se presentaban dichos efectos, lo cual aporta información relevante para el estudio posterior de otras especies pertenecientes a este género que podrían presentar aplicaciones en el área de la salud para el tratamiento de síntomas de intoxicación generados por la acción de veneno de otros animales.

Algunos ejemplos encontrados en medicina tradicional de especies del género *Ipomoea* que han presentado actividad antiveneno son *Ipomoea mauritiana* Jacq., *Ipomoea alba* L., *Ipomoea purpurea* (L.) Roth., e *Ipomoea setifera* Poir., que han

sido utilizadas para el tratamiento de la intoxicación por la mordedura de serpiente en regiones de Centroamérica (Giovannini *et al.*, 2017). *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. es otra de las especies que ha mostrado propiedades de disminución en los síntomas generados por el veneno de peces venenosos, mantarrayas, insectos y medusas (D'Ambra *et al.*, 2020; Xavier-Santos *et al.*, 2022). Para *Ipomoea aquatica* e *Ipomoea murucoides*, se han reportado efectos benéficos sobre la intoxicación por picadura de escorpiones (Uawonggul *et al.*, 2006).

2.1.1 *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult.

Ipomoea murucoides Roem. & Schult. es una especie descrita en la taxonomía como parte de la Clase Equisetopsida, Orden Solanales y Familia Convolvulaceae. Cuenta con un área de extensión delimitada desde el occidente y centro de México hasta Guatemala, viéndose favorecido su crecimiento y desarrollo en ecosistemas de tipo matorral subtropical (Carranza, 2007).

Conocida de manera coloquial con el nombre de cazahuate blanco o palo bobo, *Ipomoea murucoides* pertenece a una pequeña fracción del género de carácter leñoso arbustivo y arborescente, ya que la mayoría de los ejemplares son identificados como plantas trepadoras arbustivas. Su periodo de floración se extiende de octubre a enero, pero puede llegar hasta marzo y presenta flores campanuladas de color blanco que generalmente son polinizadas por murciélagos (Figura 1) (Valencia Díaz *et al.*, 2021).

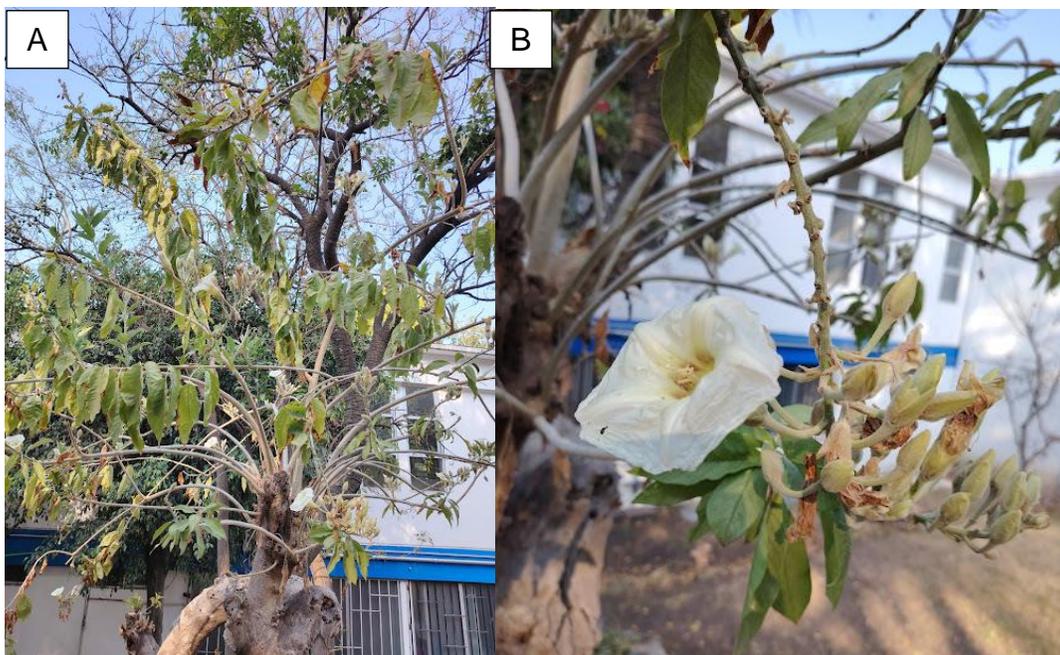


Figura 1. Árbol de *Ipomoea murucoides* ubicado en la Facultad de Ingeniería, Centro Universitario de la Universidad Autónoma de Querétaro. A) Árbol de *I. murucoides*, B) Flor de *I. murucoides*.

Múltiples compuestos producidos por esta planta han sido aprovechados por el ser humano con diversos propósitos, entre ellos destacan los compuestos químicos como el fitol y ácido palmítico, que reprimen la germinación de semillas de plantas epífitas, así como la presencia de actividad insecticida, posiblemente atribuida a alcaloides pilorridínicos, compuestos cuya toxicidad ha sido evaluada, mostrando resultados positivos tanto para insectos como mamíferos que han llegado a consumir la planta (Moreira *et al.*, 2018).

Es conocido que en la medicina tradicional suelen emplearse las hojas, flores y partes de corteza del árbol para la preparación de infusiones que combaten síntomas de intoxicación por picadura de animales como los alacranes, o para la disminución del efecto de inflamación provocado por golpes. Adicionalmente, el humo generado a partir de la combustión de sus hojas es utilizado como repelente contra mosquitos (Valencia Díaz *et al.*, 2021).

Sumado a los usos en la medicina tradicional que se le ha dado al cazahuate, entre los principales estudios de laboratorio realizados en la especie se destaca que esta

planta cuenta con la presencia de compuestos característicos de tipo glicorresinas. Estos han sido aislados de las raíces y son denominados murucinas 1-5, las cuales han mostrado actividad marginal contra células de carcinoma de ovario (OVCAR-5) y, por otra parte, otros cinco tetrasacáridos lipofílicos (murucoïdinas XII-XVI) se han aislado de sus flores y han sido puestos a prueba *in vitro* para observar su actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, resultando que, de entre estos, la murucoïdina XIV muestra actividad contra la cepa SA-1199B resistente a norfloxacina (Meira *et al.*, 2012).

Dentro de los estudios específicos realizados en *Ipomoea murucoïdes*, se encuentra el trabajo de tesis “Análisis fitoquímico de *Ipomoea murucoïdes*” realizado en la Universidad Nacional Autónoma de México por Graciela Elizabeth Ramos Castro, (2016), en el cual se planteó que a mayor polaridad de los solventes, se obtenía un mayor rendimiento de los extractos, esto debido a la naturaleza polar de la mayoría de los metabolitos sintetizados por la planta. En adición a esto, realizó la evaluación de extractos de hexano, diclorometano, metanol y agua mediante la determinación del espectro de absorción en la región UV de 200 a 400 nm; en esta prueba reporta que los picos de absorción de los extractos se encuentran mayoritariamente en la zona de 230 nm y reconoce que los compuestos que brindan bandas en dicha zona se caracterizan como compuestos cíclicos con doble enlace y algunos ácidos grasos insaturados (Ramos-Castro, 2016).

2.2 Panorama general de los incidentes con arácnidos

Para arácnidos de gran tamaño como las tarántulas, las capacidades de producir e inocular veneno les proporcionan ventaja en su papel como depredadores, o bien, a modo de defensa contra otros animales. Sin embargo, el encuentro de estos animales con el ser humano es cada vez más frecuente a consecuencia del crecimiento poblacional, donde las personas han comenzado a ocupar territorios donde habitan estos organismos, o por la adquisición de varias especies de manera no controlada, generalmente especies ornamentales que se adquieren como mascotas. Esto provoca un incremento en el encuentro accidental de la población con estos animales, representando peligro latente debido a que el veneno que poseen algunas especies puede generar síntomas de intoxicación que requieren de atención por parte de personal médico capacitado (Camperi *et al.*, 2020). Por lo anterior, las picaduras o mordeduras de arácnidos son consideradas como un importante problema de salud pública, en especial para países en vías de desarrollo; siendo así que la población correspondiente a América, Australia y África presenta una mayor incidencia relacionada con mordeduras de arañas en comparación con la población europea (Laustsen *et al.*, 2016).

Actualmente, la información acerca de mordedura de tarántulas es escasa, tanto para la sintomatología generada por su veneno, como para el número de incidentes que se reportan. Lo anterior se debe a que, para los arácnidos, se brinda una importancia mayor a aquellos casos que involucran especies de arañas de géneros identificados como de importancia médica, tales como *Atrax* o *Latrodectus*, las cuales claramente no son especies mantenidas en terrarios para su exhibición o mantenimiento como algunas especies de terafósidos. A esto se suma el hecho de que las mordeduras por terafósido son consideradas inofensivas para el ser humano; sin embargo, especies del género *Poecilotheria* representan la excepción a esta suposición al poseer veneno altamente tóxico para el ser humano (Fuchs *et al.*, 2014).

Síntomas como la inflamación, irritación y dolor pueden ser provocados por la acción del veneno de arácnidos, mediante la introducción del veneno al organismo por medio de picaduras (alacranes) o mordeduras (arañas). Estos venenos pueden ser

vistos como todo un coctel de compuestos biológicamente activos que involucran una sofisticada mezcla de péptidos para los cuales se requiere de nuevas fuentes de tratamientos en el área farmacológica para el desarrollo de medicamentos que logren combatir sus efectos (Peigneur *et al.*, 2018).

2.2.2 Arácnidos

La Clase Arachnida comprende una alta diversidad de organismos de entre los cuales destacan arañas y escorpiones, contando con alrededor de 100,000 especies reconocidas (Heather *et al.*, 2015). Su morfología se caracteriza por la división del cuerpo en dos secciones principales conocidas como prosoma y opistosoma. El prosoma no es segmentado, y cumple con las funciones principales de locomoción, detección y alimentación. Sobre esta sección se encuentran los quelíceros que cubren la cavidad oral en las arañas y se ve completamente relacionada con la inyección de veneno (Figura 2). El opistosoma puede o no presentar segmentación y cumple con las funciones de excreción, reproducción, digestión y respiración (Lüddecke *et al.*, 2022).

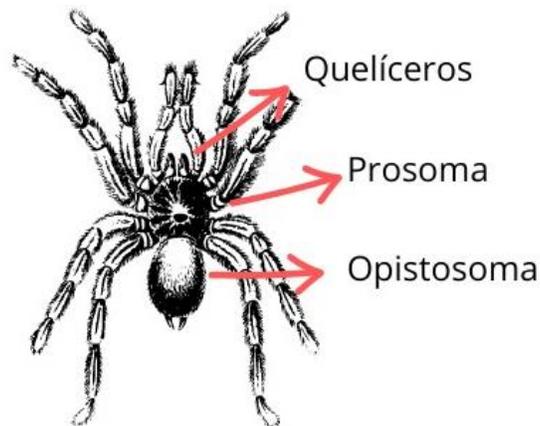


Figura 2. Segmentación y estructura principal de arácnidos.

Al no presentar mandíbulas, los dos pares de apéndices (quelíceros y pedipalpos) actúan como tal para realizar la masticación de sus presas. Su respiración se realiza a través de pulmones con estructura de libro o tráqueas por lo que se encuentran perfectamente adaptados a la vida terrestre.

Resulta sencillo relacionar el peligro con estos animales, ya que son depredadores carnívoros agresivos con habilidad para la inoculación de veneno y los efectos tóxicos que este genera en los organismos afectados, provoca síntomas como necrosis, parálisis y dolor (Laustsen *et al.*, 2016).

2.2.2.1 Familia Theraphosidae

La Familia Theraphosidae pertenece a la Clase Arachnida, Orden Araneae y Suborden Mygalomorphae. Esta se conforma de arañas de tamaño considerable denominadas tarántulas.

El sistema de inoculación de veneno de las tarántulas se ve conformado por un sistema de inyección que consiste en la conexión de la glándula de veneno con cada quelícero a través de un conducto. Cada glándula se encuentra cubierta por músculos y nervios que se encargan de proveer el control para la correcta excreción de veneno (Lüddecke *et al.*, 2022).

El veneno de estos animales es descrito como toda una combinación de miles de compuestos biológicamente activos con la capacidad de alterar el estadio fisiológico del organismo receptor, generando síntomas como necrosis, parálisis y dolor en diferentes niveles (Peigneur *et al.*, 2018). La mayoría de estos compuestos actúan sobre canales iónicos y otros receptores, brindando características de neurotoxicidad. Péptidos ricos en cisteína junto a péptidos antimicrobianos, moléculas pequeñas y proteínas de mayor tamaño son categorías que han sido descritas al momento de caracterizar el veneno de estas arañas (Lüddecke *et al.*, 2022). A grandes rasgos, podría decirse que el veneno de las tarántulas es el producto de la expresión de genes en la glándula de veneno que dan como resultado toda una mezcla de moléculas peptídicas y proteínas que, en mayor parte, actúan como neurotoxinas que alteran el funcionamiento de canales iónicos regulados por voltaje (Díaz-Peña, 2017; Cid-Urbe *et al.*, 2019).

A pesar de contar con estos antecedentes en la caracterización del veneno de los terafósidos, la gran mayoría de las especies que conforman esta familia son consideradas inofensivas al no provocar decesos en la población humana. Sin embargo, especies del género *Poecilotheria* poseen un veneno con alta toxicidad

con la capacidad de desarrollar cuadros clínicos descritos por dolor, inflamación y enrojecimiento de la zona de mordedura que pueden alcanzar niveles de malestar que requieren de atención médica (Díaz-Peña *et al.*, 2019).

En años recientes, estas arañas han sido comercializadas con el fin de ser exhibidas o mantenidas como mascotas debido a que su tamaño, colores vistosos y fácil mantenimiento, las convierte en una mascota poco convencional. Algunas especies relacionadas han sido consideradas como inofensivas, siendo así, que en Suiza es legal adquirir este tipo de mascotas sin la necesidad de reportarlas al gobierno (Fuchs *et al.*, 2014). En reportes recibidos por el Centro Suizo de Información Toxicológica, se han reportado al menos 10 casos por mordedura de *Poecilotheria* spp. desde 1995 y, de entre ellos, los síntomas provocados por la mordedura de *P. regalis* Pocock, 1899, se caracterizan por la aparición y persistencia de calambres musculares, incluso después de dos semanas del ataque (Fuchs *et al.*, 2014).

2.2.2.2 *Poecilotheria regalis* Pocock, 1899

Las especies pertenecientes al género *Poecilotheria* son conocidas como tarántulas de árbol; entre ellas se encuentra *Poecilotheria regalis*, que habita en las selvas de India y Sri Lanka. Aun siendo considerada agresiva y muy rápida (García-Arredondo *et al.*, 2015), *P. regalis* es popular por tener una estructura corporal llamativa; la longitud de su cuerpo es de entre 6 a 8 cm, sus patas pueden llegar a medir hasta 16 cm de largo y presentar color azul, amarillo, blanco o marrón. Hembras en cautiverio han llegado a vivir 8 a 12 años y, por otro lado, los machos únicamente alrededor de 2 a 4 años (Fuchs *et al.*, 2014).

En comparación con el veneno de otras tarántulas, los síntomas reportados por la mordida de especies del género *Poecilotheria* incluyen hinchazón local, eritema, dolor moderado o severo (García-Arredondo *et al.*, 2015) y, de manera muy particular, la aparición de calambres musculares tardíos, son una característica que se reporta ha llegado a permanecer incluso hasta tres semanas posteriores al día del ataque (Fuchs *et al.*, 2014).

En un análisis cromatográfico del veneno de esta tarántula, se revela que cuenta con fracciones que presentan homología con toxinas involucradas en la inhibición de canales iónicos dependientes de voltaje y, al realizar un ensayo de electroforesis, se identificó una banda correspondiente a un peso molecular característico de las hialuronidasas (Díaz-Peña, 2017). Al realizar una caracterización bioquímica para la determinación de la actividad de las principales enzimas que se encuentran en el veneno, se encontró que *P. regalis* no cuenta con actividad significativa de metaloproteasas, serinproteasas o fosfolipasa A2 (Richards *et al.*, 2023). Sin embargo, la actividad de hialuronidasa si se ve reflejada. Es importante señalar que las hialuronidasas presentan un papel crucial en el veneno de muchos animales al actuar como factor de dispersión que permite que otros componentes logren difundirse en el organismo que recibe el ataque.

2.2.3 Epidemiología de lesiones por arácnidos en México

México es reconocido por albergar una gran diversidad de organismos entre los que se encuentran especies venenosas de importancia médica. Sin embargo, es poco frecuente contar con estadísticas precisas en las que se plasme el número exacto de accidentes que ocurren (Roodt, 2015; Santibáñez-López *et al.*, 2016).

Según los datos recabados por la Secretaría de Salud (2005), de todos los casos atendidos por intoxicaciones a consecuencia de animales ponzoñosos, el 11% son provocados por arañas. La edad predominante de personas afectadas ronda de los 10 a 19 años, generalmente durante actividades de trabajo de campo o recreativas y, en menor medida, por la manipulación inadecuada de los animales sin ninguna medida de prevención (Zuñiga-Carrasco *et al.*, 2018).

3. JUSTIFICACIÓN

Considerando el grado de incidencia de encuentros accidentales y casos de intoxicación por el veneno de animales con el potencial que atenta de manera directa contra la salud humana, no es de sorprender que exista interés por la búsqueda de fuentes de terapias alternativas contra el envenenamiento causado por estas especies. Tomando en cuenta que el veneno se compone de toda una mezcla de compuestos biológicamente activos (Peigneur *et al.*, 2018), se dificulta la posibilidad de establecer un antídoto universal que pueda contrarrestar los efectos tóxicos generados en el organismo al haber sido expuesto a estas sustancias. Si bien, un antídoto puede funcionar contra un tipo de veneno, esto no asegura que funcionará contra algún otro que produzca efectos tóxicos similares.

Como ejemplo de la variación entre tratamientos, los sueros antiveneno empleados para el tratamiento de picaduras de escorpiones y mordidas de arañas, son diseñados mediante técnicas de generación de anticuerpos monoclonales que se extraen de equinos (Laustsen *et al.*, 2016). Esto representa algunos inconvenientes, puesto que al tratarse de un proceso que involucra la variabilidad de especies, se tiende a tener poco rendimiento en la producción. Esto hace que los costos de los antivenenos sean altos y generalmente van dirigidos contra algunas especies en específico de cada región (Laustsen *et al.*, 2016). Tomando en cuenta lo anterior, en México *Poecilotheria regalis* Pocock, 1899 no sería considerada como una especie de importancia clínica al ser un organismo de importación que raramente reporta casos de incidencia. Sin embargo, los antecedentes de los casos reportados por la intoxicación con veneno de esta tarántula, aunque pocos, son base suficiente para poner interés en la investigación de componentes que logren mitigar algunos de los síntomas provocados por el veneno.

Retomando los casos registrados por Fuchs y colaboradores (2014), *P. regalis* es una especie nativa de la India y Sri Lanka que se ha comercializado como mascota a pesar de caracterizarse por ser una especie agresiva. Esto representa un peligro latente para los dueños de estas arañas pues, al no contar con un tratamiento adecuado que logre contrarrestar los efectos causados por el veneno, la persona

afectada puede atravesar por síntomas desagradables que, según lo que reportan los casos, van desde la aparición de eritema, hinchazón, sudoración, rigidez en rodillas, cuello, hombros o dedos, y opresión en el pecho o respiración fuerte. Por si fuera poco, a estos síntomas se puede sumar la aparición tardía de calambres musculares que se manifiestan en distintas zonas del cuerpo con diferente grado de intensidad, llegando a generar incapacidad a la persona afectada. Al no contar con un tratamiento establecido, el personal de salud que atiende estos casos se ve limitado a la administración de analgésicos, antihistamínicos, corticoesteroides o antibióticos, con la esperanza de lograr contrarrestar parte de los síntomas.

Existen reportes que sugieren que las especies del género *Ipomoea* representan una fuente potencial de compuestos capaces de contrarrestar los efectos tóxicos causados por los componentes de algunos venenos animales. Específicamente, la especie *Ipomoea murucoides* está ampliamente distribuida en México, por lo que representa una alternativa de fácil acceso que vale la pena investigar para establecer su potencial aplicación en el desarrollo de tratamientos alternativos contra el envenenamiento causado por algunas especies como lo es *P. regalis*.

4. HIPÓTESIS

Los extractos de diclorometano, etanol y agua de las hojas de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. contienen compuestos capaces de disminuir significativamente la actividad enzimática de hialuronidasa, el efecto inflamatorio y la actividad sobre la contractilidad del músculo liso intestinal, generados por el veneno de *Poecilotheria regalis* Pocock.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Evaluar la capacidad de los extractos de distintas polaridades de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. para inhibir el efecto inflamatorio, la actividad enzimática de hialuronidasa y la neurotoxicidad del veneno de *Poecilotheria regalis* Pocock.

5.2 Objetivos específicos

- Evaluar la capacidad de los extractos de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. para inhibir el efecto inflamatorio del veneno de *Poecilotheria regalis* Pocock mediante el ensayo de edema plantar en modelo de rata Wistar.
- Determinar la capacidad de los extractos para inhibir la acción enzimática de hialuronidasa del veneno de *P. regalis*.
- Evaluar el efecto del veneno de *P. regalis* sobre contracciones espontáneas de íleon aislado de rata y determinar si dicho efecto se inhibe en presencia de los extractos de *I. murucoides*.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Animales de experimentación

Los ensayos biológicos se realizaron con animales de experimentación (ratas macho Wistar de 250 g de peso aproximado) adquiridos del Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, campus Juriquilla, Querétaro. Cada espécimen se mantuvo en aclimatación por un periodo de cinco días en un área reservada para el mantenimiento de animales de experimentación en la planta baja del edificio 2 de la Facultad de Ciencias Químicas de la UAQ. El espacio estuvo acondicionado con un equipo de control de medio ambiente adecuado como se especifica en la NOM-062-ZOO-1999. Cada animal fue mantenido en jaulas de acrílico con agua y alimento, realizando periodos de limpieza cada dos días. Al concluir los ensayos, los animales fueron inducidos a eutanasia con un ambiente de CO₂ como se indica en la NOM-062-ZOO-1999 apartado 9.4. Posteriormente, los Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos se etiquetaron y almacenaron bajo las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-087-SSA-2002. Los cadáveres se contuvieron en bolsas amarillas a -20 °C y los punzocortantes en contenedores rojos especiales. El almacenaje ocurrió en un periodo no mayor a 30 días puesto que, al paso de este periodo, se realizó la contratación de un servicio especial dedicado al tratamiento y procesamiento de dichos residuos. En cuanto a los residuos químicos generados, fueron manejados y almacenados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-005-stps-1998.

6.2 Recolección de materia vegetal y preparación de extractos

Las hojas de *Ipomoea murucoides* fueron colectadas de plantas con ubicación en la ciudad de Santiago de Querétaro (N 20° 35' 17.02" y O 100° 23' 17.02"). Se procedió a secar a temperatura ambiente bajo la sombra durante un periodo de dos a tres semanas. Posteriormente, el material vegetal seco fue triturado con un molino manual para nixtamal y granos para obtener una molienda de tamaño medio sin llegar a un polvo fino. El material resultante fue sometido a maceración durante una semana con los solventes de distinta polaridad seleccionados para hacer la

extracción de un amplio espectro de componentes de la planta. El cambio de solvente se hizo cada semana de manera consecutiva en el orden que se menciona a continuación: diclorometano, etanol y agua. Aquellos extractos obtenidos de la maceración con diclorometano y etanol fueron secados a presión reducida en un rotaevaporador, mientras que el extracto acuoso se secó mediante liofilización. Una vez que los extractos secos fueron obtenidos, estos se almacenaron en refrigeración a 4 °C. La preparación de los extractos fue realizada por la Q.F.B. Ivonne Acosta Buitrón en el edificio de Posgrado en Ciencias Químico Biológicas de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

6.3 Recolección y obtención de veneno de arácnidos

El veneno fue recolectado de distintos especímenes adultos hembra de la tarántula *Poecilotheria regalis*, que fueron mantenidos en el Aracnario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro (Número de registro INE/CITES/DGVS-CR-IN-0619-QRO/00). El mantenimiento, identificación y extracción de veneno estuvo a cargo del Biol. Luis Cuéllar Balleza, encargado del Aracnario. La extracción del veneno se realizó mediante la técnica de estimulación eléctrica, el cual es un método ya estandarizado para la obtención de veneno de tarántulas. El veneno obtenido fue almacenado a -70 °C y su cantidad de proteína se determinó mediante el método de Bradford.

6.4 Evaluación de efecto anti-inflamatorio

El ensayo de edema plantar inducido por carragenina (Mortari *et al.*, 2012) fue empleado para la determinación de la capacidad anti-inflamatoria de los extractos de *Ipomoea murucoides*. En este ensayo, el extracto vegetal acuoso se preparó para ser administrado vía oral por medio de una cánula a ratas macho Wistar de 250 g de peso aproximado (n = 5) que fueron mantenidas en un ayuno de 12 horas, la dosis empleada fue de 1000 mg/kg haciendo la disolución del extracto con solución salina fisiológica estéril (García-Arredondo *et al.*, 2016). Después de una hora de la administración del extracto vegetal, un volumen de 100 µl de una solución de λ-carragenina (Sigma-Aldrich 22049-5G-F) al 3 % en solución salina fisiológica fue administrado vía subcutánea en la superficie plantar de la extremidad trasera

derecha para inducir la inflamación. Como control negativo se contó con un grupo de roedores al que solo se le administró la solución salina fisiológica. Cada grupo de experimentación fue administrado con 40 µg de proteína de veneno, disuelta en 50 µl de solución salina fisiológica. El nivel de inflamación se determinó por la toma de medidas del desplazamiento de volumen de agua con un pletismómetro manual que consistía en un tubo de centrifuga de 50 ml ajustado a un volumen estandarizado y un vernier digital que permitía medir el desplazamiento de agua. La toma de cada medición se realizó cada 10 minutos dentro de una hora y posteriormente las medidas fueron tomadas cada 15 minutos durante otra hora. El porcentaje de inhibición de la inflamación fue obtenido tomando en cuenta los siguientes valores de actividad anti-inflamatoria: actividad anti-inflamatoria moderada de 30 a 65%; y actividad anti-inflamatoria alta para valores superiores a 65%.

Por otra parte, los extractos vegetales etanólico y acuoso también fueron evaluados por la vía de administración tópica bajo las mismas condiciones de experimentación establecidas en la evaluación de la vía de administración oral del extracto acuoso. Las mediciones fueron tomadas como se indicó en la evaluación anterior y se determinó el porcentaje de inhibición de inflamación, siguiendo la misma metodología.

6.5 Evaluación de la inhibición de la actividad de la hialuronidasa

Para esta evaluación, primero se obtuvieron los valores de actividad de hialuronidasa del veneno por medio del método turbidimétrico de Di Ferrante previamente estandarizado en el laboratorio (Rodríguez-Rios *et al.*, 2017). Diferentes concentraciones del veneno fueron diluidas en 150 µl de amortiguador de acetatos (0.2 M de acetato de sodio con 0.15 M de NaCl, pH 6) y 100 µL de sustrato, que fue preparado disolviendo 1 mg de ácido hialurónico (sal de sodio de *Streptococcus equi*, Sigma-Aldrich) en 1 ml de amortiguador de acetato. Las mezclas se llevaron a incubación por 15 minutos a 37 °C y posteriormente, la reacción fue detenida adicionando 1 ml de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (BCTA) al 2.5% (diluido en NaOH al 2%), y los tubos de reacción se dejaron en

reposo por 10 minutos. Posterior a esto, la absorbancia fue medida a 400 nm contra un blanco que contenía 0.5 ml de amortiguador de acetato de amonio 0.05 M a pH 6 (con 0.15 M) y 2 ml de BCTA. La reducción de la turbidez fue expresada como el porcentaje de ácido hialurónico restante, tomando como 100% la absorbancia de un tubo al que no le fue agregada muestra, ni enzima. La unidad de turbidez (TRU) se expresó como la cantidad de enzima requerida para hidrolizar el 50% del ácido hialurónico. Como control, se empleó una hialuronidasa de testículo bovino tipo IV-S (Sigma-Aldrich). Para la evaluación del efecto inhibitorio de los extractos de *I. muruoides* sobre la actividad de hialuronidasa del veneno, el ensayo de hialuronidasa se realizó posterior a la incubación de veneno (20 µg/ml) en presencia de distintas concentraciones de cada extracto (100, 200 y 500 µg/ml) durante 15 minutos a 37 °C en un volumen final de 0.1 ml. Después, el porcentaje de inhibición de actividad hialuronidasa fue determinado.

6.6 Ensayo de íleon aislado de rata

Para esta prueba, se evaluó la actividad de los extractos sobre el tono del músculo liso vascular mediante el ensayo de íleon aislado de rata previamente estandarizado (Rojas *et al.*, 2002). Las ratas macho de la cepa Wistar (250 a 300 g) fueron sacrificadas por decapitación con una guillotina (NOM-062-ZOO-1999). Segmentos de íleon de 1 cm fueron extraídos y colocados en solución fisiológica de Krebs-Henseleit de composición 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1.2 mM MgSO₄, 1.2 mM KH₂PO₄, 25 mM NaHCO₃ y 11 mM D- (+) glucosa sobre un baño de hielo con gasificación constantemente con 95 % O₂ y 5 % CO₂. Las contracciones espontáneas del tejido fueron medidas en un polígrafo Grass. Posterior a un tiempo de estabilización de 10 minutos a una tensión de 1 g, se realizó un periodo de control con una duración de 10 minutos. Después, la muestra de veneno de *P. regalis* se evaluó en el tejido a una concentración de 20 µg/ml. Posteriormente se procedió a la evaluación del efecto del veneno previamente incubado con el extracto acuoso y etanólico de *I. muruoides* (1000 µg/ml) durante 15 min a 37 °C. El efecto de los extractos por sí solos a la misma concentración se evaluó sobre el tejido como control y, de igual manera, se determinó si para el extracto etanólico el solvente (etanol) presentaba un efecto sobre las contracciones por sí solo. Para este ensayo

se utilizó la acetilcolina y verapamilo en concentración 1×10^{-3} M como sustancias de referencia que tienen efectos sobre el tejido de músculo liso empleado para el ensayo.

6.7 Análisis estadístico

Los análisis fueron realizados mediante el programa estadístico GraphPad Prism versión 5.00 para Windows (San Diego California, USA). Los valores de concentración efectiva media (CE_{50}) y efecto máximo (E_{max}) se obtuvieron por un ajuste no lineal de las curvas semilogarítmicas concentración-respuesta y se realizó un reporte como la media de 4 repeticiones con sus intervalos de confianza del 95%. Los parámetros restantes se reportaron como la media de 4 a 5 repeticiones \pm el error estándar. Las comparaciones entre las curvas se realizaron mediante un ANOVA de dos vías seguido de un análisis post hoc de Bonferroni. El resto de las comparaciones fueron realizadas mediante un ANOVA de una vía seguida de un análisis post hoc de Dunnett.

7. RESULTADOS

a. Recolección de materia vegetal y descripción botánica

Es bien sabido que las plantas pueden sintetizar metabolitos de manera diferencial debido a las condiciones en las cuales se desarrollan, ya que existen factores bióticos y abióticos que pueden generar diferentes tipos de estrés que alteran los procesos fisiológicos y metabólicos ante los cuales las plantas ofrecen una respuesta distinta para intentar mantener la homeostasis celular o reducir efectos nocivos (Méndez-Espinoza y Vallejo, 2019). Por tal motivo, con la finalidad de no presentar variaciones en la obtención de los extractos, la recolección de la materia vegetal fue realizada únicamente de especímenes de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. ubicados en el municipio Santiago de Querétaro, Querétaro en las facultades de Ciencias Naturales e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro. El voucher con número QMEX00015386 fue depositado en el herbario de Querétaro “Dr. Jerzy Rzedowski” QMEX de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Inicialmente la especie fue identificada y las partes aéreas se colectaron para realizar una descripción, tal como dicta la ficha técnica publicada por la Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO), (2011). *I. murucoides* presenta las flores blancas en forma de campana o embudo y ésta presenta una longitud de casi 10 cm desde el pedúnculo hasta la corola (Figura 3).



Figura 3. Flor de *I. murucoides*.

El desarrollo de las flores es monocasial (solo una flor terminal), presentando una estructura juvenil de capullo con el cáliz formado por sépalos desiguales cubiertos de tricomas que le brindan una apariencia y textura aterciopelada (Figura 4).



Figura 4. Desarrollo de la flor de *I. murucoides*.

La flor es la estructura reproductiva de las plantas y en esta especie se encuentra conformada por estambres y estigma que no sobresalen de la flor, ambas estructuras son blancas con apariencia afelpada en los extremos superiores (Figura 5).



Figura 5. Estructuras reproductivas de *I. murucoides*. A) Visualización de estructuras principales (estambres y estigma), B) Acercamiento a estructuras principales, C) Ovario y óvulo de la flor.

Las hojas tienen forma de ovalo alargado (oblongo-elíptica) y poseen un color verde oscuro. Su tamaño es variable debido a que hojas juveniles recolectadas median de 5 a 12 cm, pero se observaba la presencia de hojas de mayor tamaño que alcanzaban medidas de 15 a 18 cm (Figura 6).



Figura 6. Comparación morfológica entre hojas juveniles y maduras de *I. murucoides*.

b. Evaluación del efecto anti-inflamatorio

La evaluación del efecto inflamatorio indicó que el veneno de *P. regalis* induce un efecto con un máximo alrededor de los 30 minutos después de su inyección en la planta de la pata trasera derecha. Este efecto no disminuyó significativamente en presencia de los tratamientos con los extractos etanólico y acuoso por vía tópica, ni con el extracto acuoso por vía oral (Figura 7). En este ensayo, se evaluó como referencia el efecto inflamatorio de la carragenina.

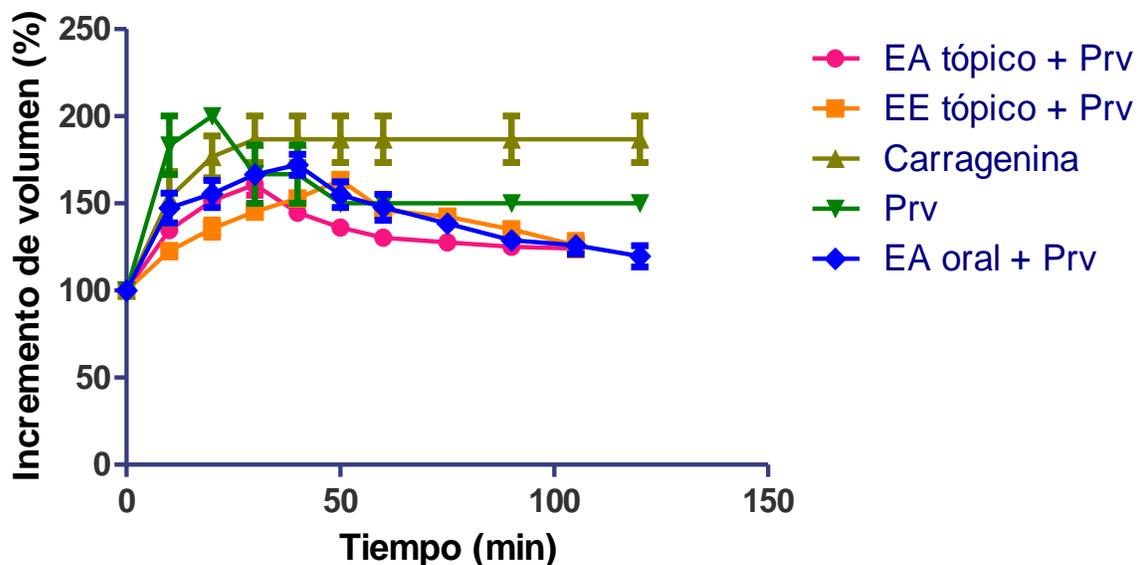


Figura 7. Efecto inflamatorio del veneno de *P. regalis* (Prv) en ausencia y presencia de tratamiento con los extractos de *I. muruoides*. Tratamiento con extracto acuoso aplicado vía tópica (EA tópico + Prv), tratamiento con extracto etanólico aplicado vía tópica (EE tópico + Prv), tratamiento con extracto acuoso aplicado vía oral (EA oral + Prv). No se encontraron diferencias significativas mediante un ANOVA de dos vías empleando un análisis post hoc de Bonferroni.

El seguimiento en el aumento de volumen por la inflamación generada con el veneno de *P. regalis* se registró como aumento en porcentaje del volumen inicial (100%) con la medición del desplazamiento de agua contenida en un hidropletismómetro manual (Figura 8).

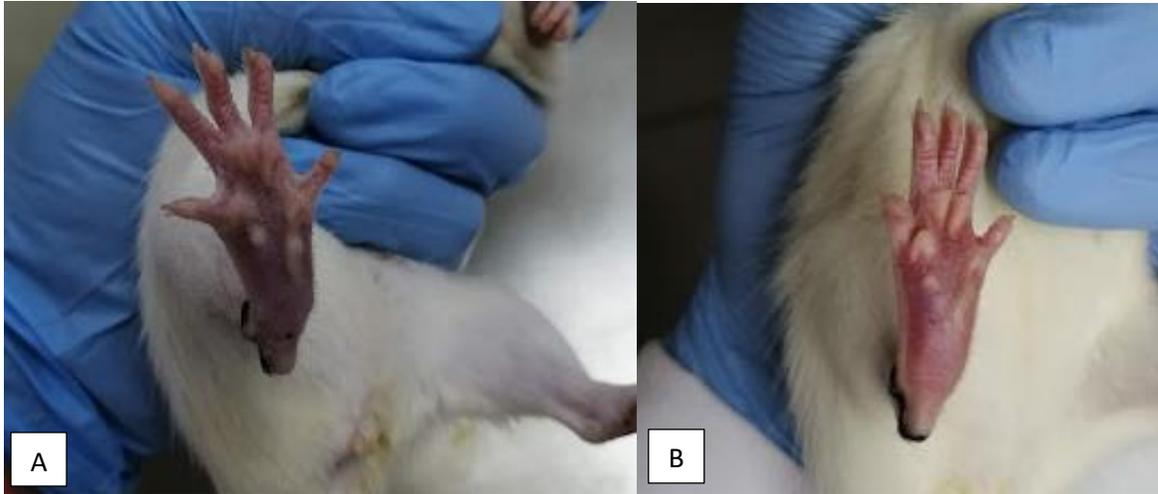


Figura 8. Inflamación inducida con veneno de *P. regalis* (40 μ g de proteína de veneno disuelta en 50 μ l de solución salina fisiológica) en la pata trasera derecha de rata (n =3). A) antes de la administración del veneno. B) Inicio de la inflamación aproximadamente 1 minuto después de haber administrado el veneno.

c. Evaluación de la actividad de la hialuronidasa en presencia de extractos de *I. muruoides*

Los resultados de la evaluación de los extractos acuoso y etanólico de las hojas de *I. muruoides* previamente incubados con el veneno de *P. regalis* mostraron diferencias entre ellos. Por un lado, se observó que el extracto acuoso reduce la actividad de la hialuronidasa de manera significativa al incrementar su concentración (Figura 9A), mientras que el extracto etanólico no tuvo un efecto significativo de reducción sobre la actividad enzimática (Figura 9B).

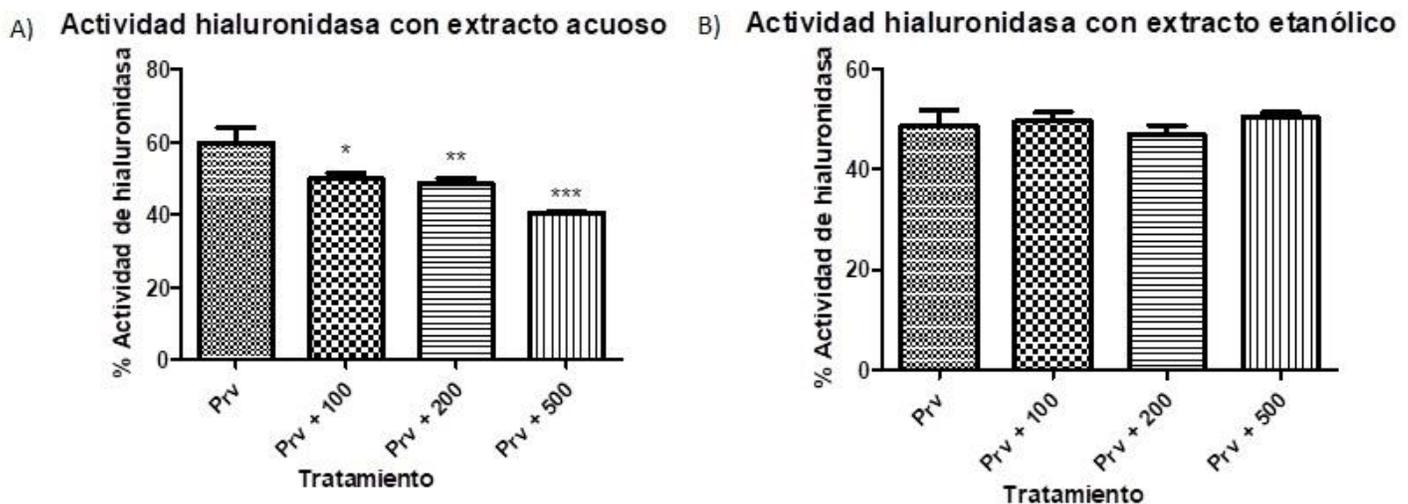


Figura 9. Evaluación de actividad de la hialuronidasa del veneno de *P. regalis* (Prv, 20 µg/ml) en presencia de los extractos de *I. muruoides*. A) Evaluación de extracto acuoso (100, 200 y 500 µg/ml), B) Evaluación de extracto etanólico (100, 200 y 500 µg/ml). * Indican el grado de diferencia significativa por evaluación con ANOVA de una vía y análisis post hoc de Dunnett ($p < 0.05$) (* menor grado, ** gado medio, *** mayor grado).

Es importante mencionar que, en un principio, se contempló la evaluación de extractos de hojas de *I. muruoides* obtenidos a partir de procesos secuenciales de maceración y secado con los solventes diclorometano, etanol y agua, sin embargo, el extracto obtenido a partir de la extracción con diclorometano presentó problemas de solubilidad, impidiendo que se pudiera llevar a cabo su evaluación y, por ende, solo los extractos acuoso y etanólico fueron evaluados. Por tal motivo, al contar con los resultados de estos dos extractos, solo se realizó la comparación entre ambos para deducir que el extracto acuoso cuenta con mayor potencial en la reducción de la actividad de la hialuronidasa del veneno de *P. regalis*.

d. Ensayo de contractilidad íleon aislado de rata Wistar

Con la finalidad de evaluar una posible disminución de la actividad de las neurotoxinas presentes en el veneno de *P. regalis*, se evaluó su efecto sobre las contracciones espontáneas de segmentos de íleon aislados de rata. De esta manera, se encontró que el veneno produce un efecto inhibitorio de las contracciones espontáneas. Como parte de este ensayo, la acetilcolina y verapamilo fueron utilizadas como sustancias de referencia, debido a que estas provocan la alteración del tejido empleado al aumentar o reducir las contracciones espontáneas respectivamente. Se evaluó también el efecto del veneno previamente incubado en presencia del extracto acuoso de las hojas de *I. murucoides*, el cual, en otro estudio no mostró actividad sobre las contracciones espontáneas de los segmentos de íleon. La Figura 10 muestra los resultados obtenidos a partir de la evaluación de cada una de las sustancias estudiadas. En ella, se puede observar que el extracto acuoso obtenido a partir de las hojas de *I. murucoides* no altera las contracciones espontáneas del íleon aislado de rata. Por otra parte, el veneno de *P. regalis* produce una disminución en la tensión del tejido y finalmente, se observa que al coaplicar el extracto con veneno, no se observa un efecto significativo en comparación con el efecto del veneno solo a la misma concentración (Figura 11).

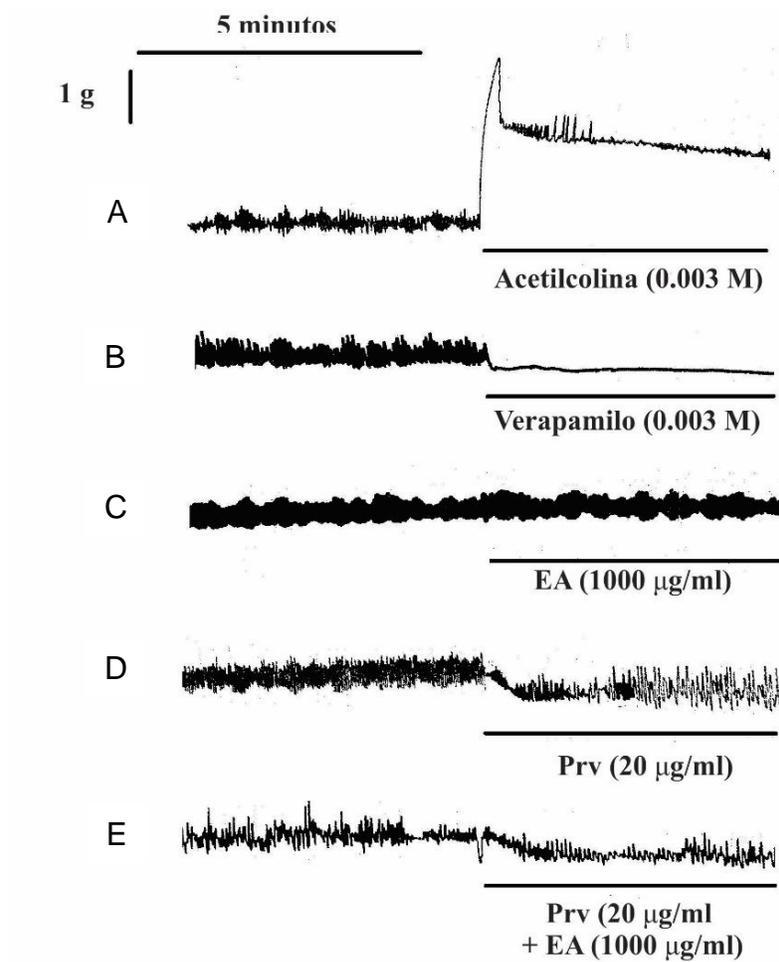


Figura 10. Registro de contracciones espontáneas de íleon aislado de rata Wistar con distintas sustancias. A) Acetilcolina 0.003M, B) Verapamilo 0.003M, C) Extracto acuoso (EA) 1000 µg/ml, D) Veneno de *Poecilotheria regalis* (Prv) 20 µg/ml, E) Prv (20 µg/ml) incubado con EA (1000 µg/ml).

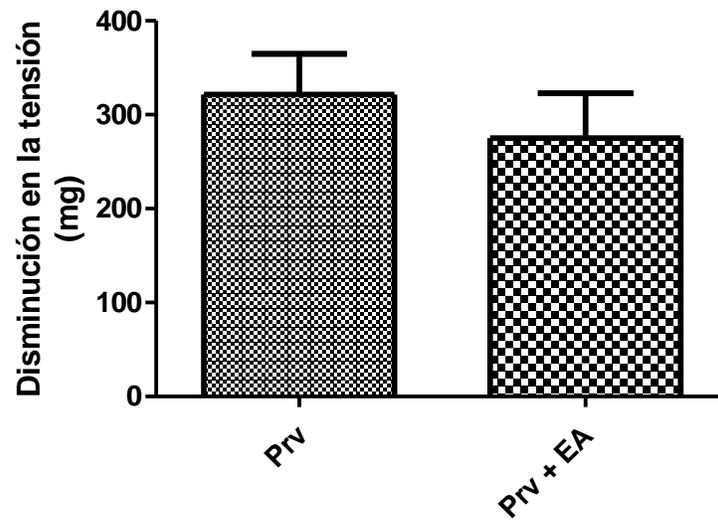


Figura 11. Diferencia entre la disminución de la tensión entre los tratamientos con veneno (Prv) y veneno incubado con el extracto acuoso (Prv + EA). No se observaron diferencias significativas ($n = 4$) mediante un análisis t de Student.

8. DISCUSIÓN

En algunos estudios se ha demostrado previamente que algunas de las especies del género *Ipomoea* tienen la propiedad de neutralizar síntomas generados por la actividad tóxica de venenos de algunos animales tales como escorpiones y medusas. Por ejemplo, *Ipomoea pes-caprae* se utiliza para tratar la dermatitis producida por la picadura de medusas, peces venenosos, mantarrayas e insectos (da Silva Barth *et al.*, 2017; Pereda-Miranda *et al.*, 2005), *Ipomoea aquatica* Forsk. ha sido utilizada contra veneno de escorpión (Uawonggul *et al.*, 2006), *Ipomoea campanulata* L. contra el veneno de serpiente (Singh *et al.*, 2003). En México, *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult., es empleada para contrarrestar el efecto de intoxicación por picadura de alacrán (Valencia Diaz *et al.*, 2021). Por esta razón, en este estudio se evaluó la capacidad de los extractos de las hojas de *I. murucoides* para contrarrestar los efectos causados por el veneno de la tarántula *Poecilotheria regalis*, misma que es conocida como una especie subestimada debido a que provoca síntomas clínicos que requieren atención médica pero no se conocen tratamientos adecuados hasta el momento (Fuchs *et al.*, 2014; Asultan *et al.*, 2023).

Primero, se evaluó si los extractos de las hojas de *I. murucoides* tienen la capacidad de inhibir el efecto inflamatorio causado por el veneno de *P. regalis*. Se sabe que la inflamación es una de las múltiples respuestas que el cuerpo desarrolla para combatir agresiones de naturaleza física, química o biológica que como resultado provocan vasodilatación e incremento de la permeabilidad vascular, ocasionando el escape de líquido de los vasos sanguíneos y dando como resultado la acumulación de líquido denominada edema (Román Sánchez, 2020). Como se mencionó anteriormente, *I. murucoides* se reporta como una de las especies utilizadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de la inflamación generada por golpes y reumas, siendo indicada la aplicación externa de partes aéreas de la planta en la zona afectada (Ramos Castro, 2016). Tomando en cuenta lo anterior, la vía de administración tópica representa un punto importante para valorar la efectividad de los extractos obtenidos a partir de las hojas de la planta, puesto que es la forma

tradicional de aplicación contra la inflamación. Sin embargo, los resultados de este estudio no mostraron un efecto antiinflamatorio contra el veneno de *P. regalis*.

Es importante conocer que la piel representa una barrera física ante la cual se deben proporcionar sistemas efectivos que logren que los compuestos de interés penetren para que se vea reflejado un efecto y, como la difusión de un fármaco a través de la piel se realiza mediante difusión pasiva, es evidente que este medio de administración resulte menos eficaz en comparación con otros (Román Sánchez, 2020). Para este ensayo, no se vio reflejado un contraste notable con la vía de administración oral, la cual también se reporta en la literatura, aunque esta vía es mayormente utilizada para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales (Oropeza, 2012).

Adicionalmente, se ha llegado a considerar que parte del proceso inflamatorio podría verse relacionado con la acción de las enzimas tipo hialuronidasa que forman parte del veneno de *P. regalis*, debido a su función de romper el ácido hialurónico presente en la matriz extracelular, lo que permite que los demás componentes del veneno se difundan en el organismo afectado y, por consiguiente, se desarrolle la inflamación como parte de la respuesta inmune (Fronza *et al.*, 2014). Sin embargo, es necesaria una investigación específica que aborde el tema para poder confirmarlo.

Abordando el tema de las hialuronidasas, estas son descritas como enzimas que forman parte de los componentes principales del veneno, al ser parte de los llamados factores de dispersión. Dicha denominación se atribuye a que estas enzimas cuentan con la capacidad de llevar a cabo la degradación del ácido hialurónico, uno de los componentes que se encuentra en la matriz extracelular como una barrera que impide el paso del veneno. Es por esta razón que las hialuronidasas ejercen su acción mediante la escisión de la unión que existe entre las moléculas de D-glucoronato y N-acetilglucosamina que conforman el ácido hialurónico (Keisuke *et al.*, 2020; Guerra-Duarte *et al.*, 2019).

Entendiendo este principio, el ensayo turbidimétrico permite determinar el nivel de actividad que presenta una concentración conocida de enzima con el sustrato bajo condiciones determinadas. Dado que, a mayor actividad enzimática la turbidez se ve reducida, durante este ensayo, los extractos de *I. mururoides* fueron evaluados para determinar su actividad de hialuronidasa, la cual ya ha sido reportada en el veneno de *P. regalis* (Díaz-Peña, 2017). De este modo, aquellos extractos que cuentan con la capacidad de disminuir la actividad podrían ser tomados en cuenta para estudios posteriores que evalúen que componentes intervienen en la actividad de las hialuronidasas y cómo lo hacen.

La mayoría de los metabolitos secundarios que son producidos por las plantas tienden a presentar una naturaleza polar para favorecer su distribución en el organismo de manera eficaz, esto es respaldado debido a que el agua es el solvente del que los seres vivos necesitamos para vivir, y clara mente es un elemento polar (Ramos-Castro, 2016). Es por tal motivo que muy probablemente, en el extracto acuoso, se concentre una mayor cantidad de componentes que pudieran estar llevando a cabo el efecto de reducción de la actividad de hialuronidasa y, por ende, se brinda este resultado de mayor efectividad en comparación con el extracto etanólico de menor polaridad.

No se descarta por completo la evaluación del extracto obtenido con diclorometano. Sin embargo, es necesaria la búsqueda de un solvente en el cual se logre disolver el extracto y que además no interfiera con las condiciones del ensayo.

Es bien sabido que varias de las especies que pertenecen al género *Ipomoea* son utilizadas para el tratamiento de desórdenes intestinales tales como la diarrea y espasmos, los cuales aparentemente se ven reducidos por propiedades antiespasmódicas de estas plantas. Tal es el caso de *I. stans*, la cual es utilizada tradicionalmente en México para el tratamiento de ataques epilépticos, como purgante, hipotensivo y abortivo, debido a que presenta un efecto sobre el sistema nervioso central (Oropeza, 2012). Su administración generalmente se da por vía oral, al realizar la preparación de infusiones con partes de la planta.

De manera particular, la administración oral de *I. murucoides* es utilizada para el tratamiento de la intoxicación por picadura de alacrán, lo que la coloca como una especie con capacidad de reducir los síntomas de envenenamiento provocados por este arácnido (Ramos-Castro, 2016). Con este antecedente, se propone que los extractos de *I. murucoides* podrían contar con la capacidad de reducir algunos de los síntomas de intoxicación generados por otras especies de arácnidos.

Para el caso particular de las tarántulas, se conoce que entre los componentes de su veneno resalta una amplia variedad de neurotoxinas peptídicas que tienen como blancos principales canales iónicos o receptores celulares (García-Arredondo *et al.*, 2015). Dichos blancos se ven involucrados en el mantenimiento del estado fisiológico normal del organismo, motivo por el cual, la evaluación de la alteración generada por el veneno y los extractos obtenidos en este estudio se realizó en el tejido de intestino aislado de rata, ya que este es un modelo ideal para la evaluación de neurotoxinas y otras sustancias al estar conformado por un sistema nervioso entérico que consta de dos plexos y un sistema de musculo liso (Romero-Trujillo *et al.*, 2012). De este modo, los efectos de las neurotoxinas se pueden ver reflejados por un aumento o disminución en las contracciones espontáneas del tejido.

Dado que el fundamento para evaluar la actividad biológica de extractos vegetales se basa en utilizar un tejido que cuente con la capacidad de brindar respuestas a estímulos físicos o químicos que puedan ser controlados, el íleon también resulta adecuado por contar con terminales nerviosas susceptibles a estos estímulos, además, la función de contracción y relajación espontánea puede ser mantenida durante periodos de tiempo considerables bajo las condiciones adecuadas (Serrano, 2005).

En el presente estudio, se observó que el veneno de *P. regalis* disminuye las contracciones espontáneas en el tejido de íleon aislado de rata, resultado que se puede ver respaldado por estudios previos en los que este mismo veneno muestra disminución en el tono del músculo liso vascular, al reflejar actividad vasodilatadora en anillos de aorta aislados de rata (Díaz-Peña *et al.*, 2019), lo cual podría deberse a la interferencia de los componentes del veneno a través de diferentes mecanismos, uno de ellos mediante la disminución de la entrada de calcio a las células de músculo liso (Díaz-Peña *et al.*, 2023). Teniendo esto en cuenta, es posible que esa disminución en la permeabilidad de calcio se vea reflejada en el tejido de íleon como una disminución en las contracciones basales a consecuencia de la reducción de entrada de calcio a las células de músculo liso intestinal.

Con la finalidad de observar una posible interferencia del extracto acuoso de *I. murucoides* con el efecto del veneno de *P. regalis* sobre las contracciones espontáneas de los segmentos de íleon, se planteó este experimento en el que se obtuvieron registros de la modificación en las contracciones espontáneas del íleon aislado de rata debidas al extracto acuoso de *I. murucoides*, el veneno de *P. regalis* y la mezcla del extracto acuoso y el veneno. Sin embargo, los resultados mostraron que el extracto acuoso de *I. murucoides* por sí sólo no tiene efecto sobre las contracciones de los segmentos de íleon, pero tampoco tiene efecto sobre la actividad del veneno de *P. regalis*. Uno de los principales síntomas manifestados por el envenenamiento de esta tarántula son los espasmos musculares (Ahmed *et al.*, 2009). La evaluación previa del veneno sobre el tono del músculo liso arterial y en este estudio sobre las contracciones espontáneas del músculo liso intestinal muestran efectos contrarios. Esto puede deberse a que los espasmos musculares que presentan los pacientes son producto de una descompensación en las concentraciones de iones debido al efecto de múltiples neurotoxinas, lo cual explicaría por qué los calambres suelen presentarse 24 horas después de la mordedura y no de manera inmediata.

9. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se plantearon como objetivos principales determinar si los extractos de las hojas de *I. muruoides* cuentan con propiedades para reducir el efecto de inflamación y actividad de hialuronidasa del veneno de *P. regalis*, así como determinar qué ocurre con la modulación de la contractilidad de íleon aislado de rata al evaluar el extracto acuoso por sí solo y en una solución constituida por el extracto y el veneno. Con este planteamiento, los ensayos realizados permitieron determinar que el extracto acuoso cuenta con potencial para reducir la actividad de las hialuronidasas del veneno de *P. regalis*. Sin embargo, ni el extracto acuoso, ni el extracto etanólico presentaron un efecto inhibitorio sobre la actividad inflamatoria ni neurotóxica del veneno. Estos resultados muestran que en el extracto acuoso de las hojas de *I. muruoides* probablemente se encuentran compuestos que resultan de interés para futuros estudios sobre la disminución la actividad de hialuronidasas de venenos.

10. REFERENCIAS

- Alvarez Barajas M. J., Díaz Villagómez D. G., Guido Mendoza A. E., Hernández Ramírez R. E., López Ruiz X., Suarez León L. D., & Zapata Morales J. R. (2023). Evaluación de la actividad antinociceptiva e interacción farmacológica del extracto acuoso de *Momordica charantia* con fármacos para el tratamiento del dolor. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 21, 1–11. Recuperado a partir de <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/articloe/view/4127>
- Alsultan R., Brody J., Hurst N., Welch S., Shirazi M. Wessel's tiger ornamental tarantula bite envenomation: A case report and venom analysis. *Toxicon*. 2023 Feb;223:107013. doi: 10.1016/j.toxicon.2022.107013. Epub 2022 Dec 30. PMID: 36592763.
- Ahmed N., Pinkham M., Warrell D. A. (2009). Symptom in search of a toxin: muscle spasms following bites by Old World tarantula spiders (*Lampropelma nigerrimum*, *Pterinochilus murinus*, *Poecilotheria regalis*) with review. *QJM: An International Journal of Medicine* **102**:851–857 <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcq001>
- Beheshti F., Shabani A. A., Akbari Eidgahi M. R., Kookhaei P., Vazirian M., Safavi M.; (2021) Anticancer Activity of *Ipomoea purpurea* Leaves Extracts in Monolayer and Three-Dimensional Cell Culture. *Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2021, Article ID 6666567, 14 pages <https://doi.org/10.1155/2021/6666567>
- Cai C., Chen Y., Zhong S., Ji B., Wang J., et al. (2014) Anti-Inflammatory Activity of N-Butanol Extract from *Ipomoea stolonifera* In Vivo and In Vitro. *PLoS ONE* 9(4): e95931. doi:10.1371/journal.pone.0095931
- Camperi Silvia A., Acosta G., R. Barredo G., Iglesias-García L. C., Alves da Silva Caldeira C., Martínez-Ceron M. C., Giudicessi S. L., Cascone O., Albericio F. (2020). Synthetic peptides to produce antivenoms against the

Cys-rich toxins of arachnids. *Toxicon*: X April 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2020.100038>

- Carranza E. (2007) Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán. ISSN: 2683-2712 Noviembre 2007. DOI: <https://doi.org/10.21829/fb.97.2007.151>
- Cid-Uribe J. I., Meneses E. P., F. Batista C. V., Ortiz E., y Possani L. V. Dissecting Toxicity: The Venom Gland Transcriptome and the Venom Proteome of the Highly Venomous Scorpion *Centruroides limpidus* (Karsch, 1879) *Toxins* 2019, 11, 247; doi:10.3390/toxins11050247
- D'Ambra I., Lauritano C. A Review of Toxins from Cnidaria. *Marine Drugs* 2020, 18, 507; doi:10.3390/md18100507
- da Silva Barth C., Tolentino de Souza H. G., Rocha L. W., da Silva G. F., Ferreira dos Anjos M., D'Avila Pastor V., Belle Bresolin T. M., Garcia Couto A., Santin J. R., Meira Quintão N. L. *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br (Convolvulaceae) relieved nociception and inflammation in mice – A topical herbal medicine against effects due to cnidarian venom-skin contact, *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 200, 2017, Pages 156-164, ISSN 0378-8741, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.014>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874116319730>)
- Díaz-Peña L. F. (2017). Identificación de las principales toxinas peptídicas presentes en el veneno de la tarántula *Poecilotheria regalis* (Pocock, 1899) [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro] Repositorio institucional UAQ
- Díaz-Peña L.F., Ramírez R., Cuéllar-Balleza L., Aguilar M. B., Lazcano-Pérez F., Arreguín-Espinosa R., Ibarra-Alvarado C., García-Arredondo A. Rat aorta relaxation induced by the venom of *Poecilotheria regalis* involves the activation of the NO/cGMP pathway. *Toxicon* 163 (2019) 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.03.010>
- Díaz-Peña L.F., Torres-Ortiz D., Aguilar M. B., Enoch L., Lazcano-Pérez F., Arreguín-Espinosa R., Hernandez-Cruz A., Ibarra-Alvarado C., García-Arredondo A. (2023) A subfraction obtained from the venom of the tarantula

Poecilotheria regalis contains inhibitor cystine knot peptides and induces relaxation of rat aorta by inhibiting L-type voltage-gated calcium channels. *Toxicon*: X, Volume 18, 100151, ISSN 2590-1710, <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2023.100151>

- Escudero-Sanjur S., Castro-Perez E., Acosta de Patiño H., Rastogi I., y Ramos C. W. Genetic diversity of medically important scorpions of the genus *Centruroides* (Buthidae) from Panama including two endemic species. *Journal of Genetics* (2022)101:32 Indian Academy of Sciences <https://doi.org/10.1007/s12041-022-01374-x>
- Fernández-Puga E. G., Mora-Olivo A., McDonald A., & de la Rosa-Manzano E. (2019). La familia Convolvulaceae en el municipio de Victoria, Tamaulipas, México. *Botanical Sciences*, 97(3), 539-548. <https://doi.org/10.17129/botsci.2234>
- Fronza M., Caetano G. F., Leite M. N., Bitencourt C. S., Paula-Silva F. W. G., Andrade T. A. M., et al. (2014) Hyaluronidase Modulates Inflammatory Response and Accelerates the Cutaneous Wound Healing. *PLoS ONE* 9(11): e112297. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112297>
- Fuchs J., von Dechend M., Mordasini R., Ceschi A., Nentwig W. (2014). A verified spider bite and a review of the literature confirm Indian ornamental tree spiders (*Poecilotheria* species) as underestimated theraphosids of medical importance. *Toxicon*. 2014 Jan;77:73-7. doi: 10.1016/j.toxicon.2013.10.032. Epub 2013 Nov 8. PMID: 24215987
- García-Arredondo A., Rodríguez-Rios L., Díaz-Peña L. F., Vega-Ángeles R. Pharmacological characterization of venoms from three theraphosid spiders: *Poecilotheria regalis*, *Ceratogyrus darlingi* and *Brachypelma epicureanum*. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* (2015) 21:15 DOI 10.1186/s40409-015-0017-8
- García-Arredondo A., Rojas-Molina A., Ibarra-Alvarado C., Lazcano-Pérez F., Arreguín-Espinosa R., Sánchez-Rodríguez J. Composition and biological activities of the aqueous extracts of three scleractinian corals from the Mexican Caribbean: *Pseudodiploria strigosa*, *Porites astreoides* and

- Siderastrea siderea*. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2016 Nov 24;22:32. doi: 10.1186/s40409-016-0087-2. PMID: 27904505; PMCID: PMC5121987.
- Giovannini P., Howes M. R. Medicinal plants used to treat snakebite in Central America: Review and assessment of scientific evidence. J Ethnopharmacol. 2017 Mar 6;199:240-256. doi: 10.1016/j.jep.2017.02.011. Epub 2017 Feb 4. PMID: 28179114.
 - Guerra-Duarte C., Rebello Horta C. C., Oliveira-Mendes B. B. R., de Freitas Magalhães B., Costal-Oliveira F., Stransky S., Fonseca de Freitas C., Campolina D., de Oliveira Pardal P. P., Lira-da-Silva R., Machado de Ávila R. A., Kalapothakis E., Chávez-Olórtegui C. (2019). Determination of hyaluronidase activity in *Tityus* spp. Scorpion venoms and its inhibition by Brazilian antivenoms. Toxicon 167 (2019) 134–14 <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.06.019>
 - Heather C. Proctor, Ian M. Smith, David R. Cook, Bruce P. Smith, Chapter 25 - Subphylum Chelicerata, Class Arachnida, Editor(s): James H. Thorp, D. Christopher Rogers, Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates (Fourth Edition), Academic Press, 2015, Pages 599-660, ISBN 9780123850263, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385026-3.00025-5>.
 - Hougaard Laustsen A., Solà M., Jappe E. C., Oscoz S., Præst Lauridsen L., Engmark M. Biotechnological Trends in Spider and Scorpion Antivenom Development. Toxins 2016, 8, 226; doi:10.3390/toxins8080226
 - Jouiaei M, Yanagihara AA., Madio B, Nevalainen TJ, Alewood PF, & Fry BG. (2015). Ancient venom systems: A review on cnidaria toxins. Toxins 2015;7:2251–2271.
 - Keisuke T., Nao O., Takeru N. (2020). Mechanistic Insights into a DMSO-Perturbing Inhibitory Assay of Hyaluronidase. Biochemistry <https://dx.doi.org/10.1021/acs.biochem.0c00594>
 - Laustsen A. H., Engmark M., Milbo C., Johannesen J., Lomonte B., Gutiérrez J. M., Lohse B. From Fangs to Pharmacology: The Future of Snakebite Envenoming Therapy. Curr Pharm Des. 2016;22(34):5270-5293. doi: 10.2174/1381612822666160623073438. PMID: 27339430.

- Lima M. C., Bitencourt M. A., Furtado A. A., Oliveira Rocha H. A., Oliveira R. M., da Silva-Júnior A. A., Tabosa do Egito E. S., Tambourgi D. V., Zucolotto S. M., Fernandes-Pedrosa Mde F. *Ipomoea asarifolia* neutralizes inflammation induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom. J Ethnopharmacol. 2014 May 14;153(3):890-5. doi: 10.1016/j.jep.2014.03.060. Epub 2014 Apr 2. PMID: 24704487.
- Lourenço W. R. The coevolution between telson morphology and venom glands in scorpions (Arachnida). Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, 2020, 26:e20200128; <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2020-0128>
- Lourenço W. R. The evolution and distribution of noxious species of scorpions (Arachnida: Scorpiones). J Venom Anim Toxins incl Trop Dis, 2018 Feb 22;24(1):1-12. <https://doi.org/10.1186/s40409-017-0138-3>
- Lüddecke, T., Herzig, V., von Reumont, B.M., Vilcinskis, A., 2022. The biology and evolution of spider venoms. Biol. Rev. 97 (1), 163–178. <https://doi.org/10.1111/brv.12793>
- Maharani R., Fajar M., Supratman U. Resin Glycosides from Convolvulaceae Family: An Update. Molecules. 2022 Nov 23;27(23):8161. doi: 10.3390/molecules27238161. PMID: 36500257; PMCID: PMC9817078.
- Meira M., Pereira da Silva E., David J. M., David J. P. Review of the genus *Ipomoea*: traditional uses, chemistry and biological activities. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 22(3): 682-713, May/Jun. 2012
- Méndez-Espinoza C., Vallejo Reyna M. Á. (2019). Mecanismos de respuesta al estrés abiótico: hacia una perspectiva de las especies forestales. Revista mexicana de ciencias forestales, 10(56), 33-64. Epub 30 de abril de 2020. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.567>
- Monsalvo M. A., Fortunato R. H., Wagner M. L., Ricco R. A. Estudio farmacobotánico de *Ipomoea purpurea* (L.) Roth (Convolvulaceae). Dominguezia - Vol. 34(2) - 2018. <https://www.dominguezia.org/volumen/articulos/34203.pdf>

- Moreira R., M. Pereira D., Valentão P., B. Andrade P. Pyrrolizidine Alkaloids: Chemistry, Pharmacology, Toxicology and Food Safety, *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 1668; doi:10.3390/ijms19061668
- Mortari M. R., do Couto L. L., dos Anjos L. C., Mourão C. B., Camargos T. S., Vargas J. A., Oliveira F. N., Gati Cdel C., Schwartz C. A., Schwartz E. F. Pharmacological characterization of *Synoeca cyanea* venom: an aggressive social wasp widely distributed in the Neotropical region. *Toxicon.* 2012 Jan;59(1):163-70. doi: 10.1016/j.toxicon.2011.11.002. Epub 2011 Nov 17. PMID: 22118981.
- Oropeza Gerrero, M. P. (2012). Alcaloides totales y actividad antioxidante de los extractos metanólicos de hojas de *Ipomoea murucoides* (casahuate). Universidad Tecnológica de la Mixteca. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos
[https://www.bing.com/ck/a?!&&p=e386dbe01a267d36JmltdHM9MTcxNjQyMjQwMCZpZ3VpZD0wMWYyZTdmMS1mMjgxLTZIMDUtMzIIMi1mNGZmZjNI MjZmN2EmaW5zaWQ9NTIxMA&ptn=3&ver=2&hsh=3&fclid=01f2e7f1-f281-6e05-39e2-f4fff3e26f7a&psq=29.%09Oropeza+Gerrero%2c+M.+P.+\(2012\).+Alcaloides+totales+y+actividad+antioxidante+de+los+extractos+metan%b3licos+de+hojas+de+Ipomoea+murucoides+\(casahuate&u=a1aHR0cDovL2p1cGl0Z XludXRtLm14L350ZXNpc19kaWcvMTE2MTYucGRm&ntb=1](https://www.bing.com/ck/a?!&&p=e386dbe01a267d36JmltdHM9MTcxNjQyMjQwMCZpZ3VpZD0wMWYyZTdmMS1mMjgxLTZIMDUtMzIIMi1mNGZmZjNI MjZmN2EmaW5zaWQ9NTIxMA&ptn=3&ver=2&hsh=3&fclid=01f2e7f1-f281-6e05-39e2-f4fff3e26f7a&psq=29.%09Oropeza+Gerrero%2c+M.+P.+(2012).+Alcaloides+totales+y+actividad+antioxidante+de+los+extractos+metan%b3licos+de+hojas+de+Ipomoea+murucoides+(casahuate&u=a1aHR0cDovL2p1cGl0Z XludXRtLm14L350ZXNpc19kaWcvMTE2MTYucGRm&ntb=1)
- Paula A. C., Hayashi L. S., Freitas J. C. Anti-inflammatory and antispasmodic activity of *Ipomoea imperati* (Vahl) Griseb (Convolvulaceae). *Braz J Med Biol Res.* 2003 Jan;36(1):105-12. doi: 10.1590/s0100-879x2003000100014. Epub 2002 Dec 19. PMID: 12532233.
- Peigneur S., Tytgat J., *Toxins in Drug Discovery and Pharmacology.* *Toxins* 2018, 10, 126; doi:10.3390/toxins10030126
- Pereda-Miranda R., Escalante-Sánchez E., Escobedo-Martínez C. Characterization of Lipophilic Pentasaccharides from Beach Morning Glory (*Ipomoea pes-caprae*). *Journal of Natural Products* 2005 68 (2), 226-230 DOI: 10.1021/np0496340

- Pongprayoon U., Bohlin L., Wasuwat S. Neutralization of toxic effects of different crude jellyfish venoms by an extract of *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Journal of Ethnopharmacology, Volume 35, Issue 1, 1991, Pages 65-69, ISSN 0378-8741, [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90133-X](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90133-X).
- Ramos Castro G. E. (2016). Análisis fitoquímico de *Ipomoea murucoides*. UNAM Dirección General de Bibliotecas. Tesis para obtener el título de Bióloga. <https://hdl.handle.net/20.500.14330/TES01000754037>
- Richards N.J., Alqallaf, A., Mitchell R.D., Parnell A., Haidar H.B., Almeida J.R.; Williams J., Vijayakumar P., Balogun A., Matsakas A., et al. Indian Ornamental Tarantula (*Poecilotheria regalis*) Venom Affects Myoblast Function and Causes Skeletal Muscle Damage. Cells 2023, 12, 2074. <https://doi.org/10.3390/cells12162074>
- Rodríguez-Rios L., Díaz-Peña L. F., Lazcano-Pérez F., Arreguín-Espinosa R., Rojas-Molina A., García-Arredondo A. Hyaluronidase-like enzymes are a frequent component of venoms from theraphosid spiders. Toxicon 136 43. 2017. ISSN: 0041-0101 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.07.001> <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041010117302064>
- Rojas A., Torres M., Rojas J.I., Feregrino A., Heimer-de la Cotería E.P. Calcium-dependent smooth muscle excitatory effect elicited by the venom of the hydrocoral *Millepora complanata*, Toxicon, Volume 40, Issue 6, 2002, Pages 777-785, ISSN 0041-0101, [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(01\)00281-1](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(01)00281-1).
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041010101002811>)
- Román Sánchez, I. (2020). Análisis de la actividad antiinflamatoria de tres formulaciones de uso tópico elaboradas a partir de extractos de la especie *Galphimia glauca* Cav. (Malpighiaceae). Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Centro de investigación en biotecnología. Tesis para obtener el Título de Maestría en Investigación y Desarrollo de Plantas Medicinales. <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/1829>
- Romero-Trujillo J. O., Frank-Márquez N., Cervantes-Bustamante R., Cadena-León J. F., Montijo-Barrios E., Zárate-Mondragón F., Cázares-Méndez J. F.,

Ramírez-Mayans J. (2012). Sistema nervioso entérico y motilidad gastrointestinal. *Acta Pediátrica de México* 2012;33(4):207-214
DOI: <https://doi.org/10.18233/APM33No4pp207-214>

- Roodt A. R. (2015). Veneno de escorpiones (alacranes) y envenenamiento. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* [en línea]. 2015, 49(1), 55-71 [fecha de Consulta 20 de noviembre de 2022]. ISSN: 0325-2957. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53541285007>
- Santibáñez-López C. E., Francke O. F., Ureta C., Possani L. D., Lai R. Scorpions from Mexico: From species diversity to venom complexity. *Toxins* 2016, 8, 2 <https://doi.org/10.3390/toxins8010002>
- Serrano Gallardo L. B. (2005). Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de íleon de cobayo. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Medicina. Tesis para obtener el Grado de Doctor en Ciencias con Especialidad en Química Biomédica. <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/1677>
- Singh V., Pandey M., Srivastava A., Sethi R. A non-ionic water-soluble seed gum from *Ipomoea campanulata*. *Fitoterapia*. 2003 Feb;74(1-2):40-4. doi: 10.1016/s0367-326x(02)00303-9. PMID: 12628393.
- Srivastava D., Rauniyar N. Medicinal Plants of genus *Ipomoea*. A glimpse of potential Bioactive compounds of genus *Ipomoea* and its detail. June 2020 Publisher: Lambert Academic Publishing, Mauritius, ISBN: ISBN: 978-62-0-57143-4
- Taylor W. F., Jabbarzadeh E. The use of natural products to target cancer stem cells. *Am J Cancer Res*. 2017 Jul 1;7(7):1588-1605. PMID: 28744407; PMID: PMC5523038.
- Uawonggul N., Chaveerach A., Thammasirirak S., Arkaravichien T., Chuachan C., Daduang S. Screening of plants acting against *Heterometrus laoticus* scorpion venom activity on fibroblast cell lysis. *J Ethnopharmacol*. 2006 Jan 16;103(2):201-7. doi: 10.1016/j.jep.2005.08.003. Epub 2005 Sep 15. PMID: 16169172.

- Valencia Díaz S., Pérez-Sanvicente E., León-Rivera I., Perea-Arango I., Abarca Camacho C., Flores-Palacios A. (2021). Importancia y usos de los cazahuates y quebraplatos: The importance and uses of cazahuates and quebraplatos. *Inventio*, 17(42), 1–8. <https://doi.org/10.30973/inventio/2021.17.42/2>
- Xavier-Santos J. B., Ramos Passos J.G., Santos Gomes J. A., Cavalcante Cruz J. V., Ferreira Alves J. S., Barreto Garcia V., Moreira da Silva R., Peporine Lopes N., Fernandes Araujo-Junior R., Zucolotto S. M., Silva-Junior A. A., Félix-Silva J., Fernandes-Pedrosa M. F., Topical gel containing phenolic-rich extract from *Ipomoea pes-capre* leaf (Convolvulaceae) has anti-inflammatory, wound healing, and antiophidic properties, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Volume 149, 2022, 112921, ISSN 0753-3322, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112921>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332222003109>)
- Zúñiga Carrasco I. R., Caro Lozano J., 2018. Aspectos clínicos y epidemiológicos de las mordeduras de araña en México. *Hospital medicine and clinical management* 2018. Vol. 11 No. 4, 191-203. [4.pdf \(unam.mx\)](#)