



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Evaluación de la actividad sobre el sistema  
nervioso de extractos de *Malpighia mexicana*  
y *Ehretia tinifolia***

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**B I Ó L O G O  
P R E S E N T A:**

**DAVID DÍAZ JIMÉNEZ**

**DIRECTOR: DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ**

**CODIRECTOR: DR. DANTE AVILÉS MONTES**

**CUERNAVACA, MORELOS**

**FEBRERO 2021**

## **Comité**

---

M. en C. Carolina Abarca Camacho

### **Presidente**

Dr. Nahim Salgado Medrano

### **Secretario**

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez

### **1-° Vocal**

Dra. Nayeli Monterrosas Brisson

### **2-° Vocal**

Dr. Rodolfo Abarca Vargas

### **3-° Vocal**



Cuernavaca, Morelos a 25 de enero de 2021

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**

**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**

**PRESENTE.**

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta el Pasante de Biólogo: **DAVID DÍAZ JIMÉNEZ**, con el título del trabajo: **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO DE EXTRACTOS DE *Malpighia mexicana* Y *Ehretia tinifolia*.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación de **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el artículo 33° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

**ATENTAMENTE**

**Por una humanidad culta**

JURADOR REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: M. EN. C. CAROLINA ABARCA CAMACHO

\_\_\_\_\_

SECRETARIO: DR. NAHIM SALGADO MEDRANO

\_\_\_\_\_

VOCAL: DR. DAVID OSVALDO SALINAS SANCHEZ

\_\_\_\_\_

SUPLENTE: DRA. NAYELI MONTERROSAS BRISSON

\_\_\_\_\_

SUPLENTE: DR. RODOLFO ABARCA VARGAS

\_\_\_\_\_

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

## Sello electrónico

**CAROLINA ABARCA CAMACHO | Fecha:2021-01-25 14:54:50 | Firmante**

B4O9INIT1/wMGwnk3aVJzQs2XVe94QxwsqgYr/qoFTt3spXgXra5wapBi4jctToNh+J6z0K2o8P7eTlnoQmMqwGimws4k8RCvbg23oL1hVcRUkWA13wexB5fi0c  
ULINayqiS88wXiOPfmy00NbrzZurd9uSA+c3OD1QTffXgab83G3LPYEOPOwi1YuPmcNLYRX4Pet6yGqFaqlV4KjGIR/vOhmcFSy+TdeH0rB0ACQa4MFMZCPaBvV  
TgY8324HslKyESBk8/N6SDqC/4ODZ0e08Xi64/FDQ76JISQs05FHT0UiefkjQwiNBuWn0D/G5QglbA1OKD9SiAidzUg==

**RODOLFO ABARCA VARGAS | Fecha:2021-01-25 17:11:41 | Firmante**

gMIWq+Zu2+z4I93OMMUVSbH+H7Uf2FEMK4E0G0SBm85xrdYDtBw4bj/58ndSconNPVzCOTpKsD9AU7mJyG+8ceFqbamhzJKFLTDevALTh+jnp3dGI3a15URNs  
cvaZx7Z58o9FwacaTcfTrRbwrTm2ceV+4Zky9OCv6n9bOhjeSJI7eJXng1mFD+i55jxr/xhyPcOPRafe0V2sAanfMJCXyfiJvaHMADKXPHqFL2J2wXdx/rYpeoyObTO  
nnL2Pk0y+2zyTm5JULSGzAdO 5H5/B0V4X7FVvk+hkHHRNrvWVQaWf6Q3LiBiLdCIRDrbl1NcURvR+IMJ/vcRcn6wNX7NXOHA==

**NAYELI MONTERROSAS BRISSON | Fecha:2021-01-25 18:53:12 | Firmante**

DEwGRxYSb0/H3sK42pAunWxrNKPwjZYKSL+OQ7sXWD+Ch49Wq+1eJv1LJjMYyGkD6QwunQTuqA+ueVs/1/OuRqPebc5NUgt7E1gZ37m5f7kXwtp46HogZC5N  
2B4cV5q40i4KFqy195MdvJQ4+oSccYjRwc6SjfbWY3AQ86fY3Kf8qed5GZ7DIWUv8x76Dm8Upt1cM54IkXeQwvEFxm2SCotguVYITVct1KgMhXgzWM+Jv/4H0  
JvDaPfu1wzmrLOaawK5L9 WvEjnmUMqt7XW9n1KJ5wO3nYlg50wMxbAmuDMiz0d9HYE7OzHY2ThXhi68Ef/sACK2a5YX2y4/gw==

**NAHIM SALGADO MEDRANO | Fecha:2021-01-26 01:55:58 | Firmante**

zcK4RliZwTnlpbOsCzF07RH5cMT7Ccm18NIEJG7+Nbfm7+98XZIEeY18Q+ooVqCMwTKp+D4JEknFsr9tyN3qjdDka5PYa3cuLyA+2G/LWxuTS+jJEhBCgejvA0+  
RwBzV4pltkCjqqjKE3P+E/zU+4z9Y004BqPygS2DKY6I6msYodLD/JTKrISGucEw13hhPjvtPFqJRVhO/kzqqx2Cg7AACghX3K4Zmxqglalc8yLnScBkpJ8f+cU8rPbct6TJ  
gbTvGA32vtw5RZr8j WB54PctYE2n8SYWAUnr6TrqtlxwKlUuvDus8GU2N2Wn3tpsFb6E12JxYEK+aGR+g==

**DAVID OSVALDO SALINAS SANCHEZ | Fecha:2021-01-26 10:34:12 | Firmante**

utXcPeEeM+RXIKrca1tMc8o/aNkkliotZ5yx/7feFcglykHgHSu085PQ19B6beLv6xWOYNW2Ct2D+B5GtCjDjZtCtmBKycZyq/cEJIODae29JZbU1aj8XDxzWjCdi N89W  
z9qklhwaCRd3CM1gX4D56IDt6CMeUgyxk3B+7WJ1lubqTjw2fwbtlw2TghviQHEuqmgUzN0NY+1hv5qFbuT6GEI2Agc7VUUr20hIzZKdvcHF6YrNudoqdbBUONbD  
kbGzTd+rIMSg9cSWCFGT7fG zu32Y5W81iA+LSeFru2Xpc3+IHD2wJlMB3V7UH8qUbcSa1jqOMxxWpd6fFlhOkaetQ==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave: 5Czyb6

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/GrGBW3wMYoLImpc3Ui9FGdL3Hd3xewr>



El presente trabajo se llevó a cabo en:



Este trabajo fue realizado en los laboratorios de fitoquímica del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, Cuernavaca, Morelos. Bajo la dirección del Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez y codirector el Dr. Dante Avilés Montes.



Universidad Autónoma del Estado de Morelos, facultad de ciencias biológicas.  
Cuernavaca, Morelos.

## AGRADECIMIENTOS

### GRACIAS

Al Dr. David Salinas, por la dirección de tesis y por todo el tiempo académico que me ha dedicado durante el trabajo de esta investigación, por brindarme de su gran conocimiento en el tema, pero sobre todo su valiosa amistad. Muchísimas gracias Doctor David.

Al Dr. Dante Avilés, por su colaboración como codirector de tesis y por todo el conocimiento que me otorgó durante la investigación, pero sobre todo, el tiempo académico que me ha dedicado y su valiosa amistad. Muchísimas gracias Doctor Dante.

A la M. en C. Carolina Abarca, por sus buenos comentarios para llevar a cabo correctamente mi trabajo de investigación. Por ser una excelente tutora académica, profesora y por brindarme su valiosa amistad.

Al Dr. Nahim Salgado, por su valioso aporte como sinodal de tesis y como profesor, quedo agradecido por su ayuda y por brindarme su valiosa amistad.

A la Dra. Nayeli Monterrosas, por ser una excelente profesora y sinodal durante mi carrera, además de los buenos comentarios para llevar a cabo correctamente mi trabajo de investigación. Gracias por su valiosa amistad.

Al Dr. Rodolfo Abarca, por sus valiosos comentarios y su ayuda para realizar mi trabajo de investigación, aportando comentarios que me ayudaron a tener un buen trabajo de tesis. Gracias por su valiosa amistad.

Al Dr. Cesar Sotelo, por su gran ayuda para realizar mi trabajo de investigación, aportando conocimientos sobre los extractos. Gracias por su valiosa amistad.

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por ser una institución de excelencia, la cual me permitió superarme académicamente durante toda mi carrera de licenciatura.

## DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi madre Lorenza Jiménez Cervantes, por ser un ejemplo de trabajo, lucha, perseverancia constante y una persona maravillosa, que me hacen no rendirme jamás, te amo mamá.

A la memoria de mi Padre Gil Díaz Calderón, fallecido a sus 59 años, antes que pudiera acabar mi carrera universitaria, por ser un pilar fundamental de la familia Díaz, fruto de sus enseñanzas y valores que los mantendré conmigo el resto de mi vida, te amo papá.

A mis hermanos Gilberto Díaz y Mayeli Bahena, por ser mis mejores amigos y por estar en todas las locuras, los amo hermanitos.

A mis sobrinos Esperanza, Oliver, Balam, Gabriel y Mayeli Yazmín, por ser los angelitos de la casa, los amo.

A mi tía Antonia Jiménez Cervantes, por ser parte de mi vida, por confiar en mí y por estar cuando más la necesito, muchísimas gracias tía, de corazón la quiero mucho.

A mis primos Silvestre Beltrán y Teresa Esparza, más que mis primos, los considero hermanos. Han estado ahí presentes siempre y mucho más cuando les he necesitado, les agradezco de corazón.

A mis amigos Vladimir Ocampo, Yoko Flores, Jesús Rivera, Diana Ocampo, Roberto Bahena, Eduardo Quezada, Gerardo Rosendo y Juan Sanmartin, por ser unas personas maravillosas con los que tengo una verdadera amistad.

# Índice

	Pág.
Abreviaturas	
Resumen	
1 Introducción.....	1
2 Antecedentes.....	3
2.1 Trastornos de ansiedad.....	3
2.2 Sedantes.....	4
2.2.1 Sedación.....	4
2.2.2 Fármacos ansiolíticos e hipnóticos.....	5
2.2.3 Mecanismo general de acción de las benzodiazepinas.....	6
2.2.4 Efectos secundarios de las benzodiazepinas.....	7
2.3 Trastornos de depresión.....	7
2.3.1 Trastorno depresivo distímico.....	7
2.3.2 Trastorno depresivo bipolar (Trastorno maníaco depresivo).....	8
2.3.3 Trastorno depresivo mayor (Trastorno unipolar).....	8
2.3.4 Fármacos antidepresivos.....	9
2.3.5 Mecanismos generales de acción de los antidepresivos.....	10
2.3.6 Efectos secundarios de los antidepresivos.....	11
2.4 Fisiopatología de la ansiedad y depresión.....	12
2.5 Generalidades de la familia Malpighiaceae.....	13
2.6 Generalidades de la familia Boraginaceae.....	15
2.7 Plantas a estudiar:.....	18
2.7.1 <i>Malpighia mexicana</i> JUSS (Malpighiaceae).....	18
2.7.2 <i>Ehretia tinifolia</i> (Boraginaceae).....	21

2.8	Fundamentos Farmacológicos.....	25
2.8.1	Laberinto elevado en forma de cruz (LEC) .....	25
2.8.2	Campo abierto (CA) .....	25
2.8.3	Natación forzada (NF).....	26
2.8.4	Modelo de potenciación del estado hipnótico de pentobarbital sódico .....	26
3	Justificación. ....	27
4	Hipótesis .....	28
5	Objetivos: general y específicos .....	28
5.1	Objetivo general.....	28
5.2	Objetivos particulares. ....	28
6	Materiales y métodos .....	29
6.1	Experimental.....	29
6.1.1	General .....	29
6.2	Recolecta del material vegetal.....	29
6.3	Obtención de extractos.....	29
6.4	Análisis de extractos por Cromatografía en Capa Fina (CCF).....	30
6.5	Fraccionamiento de <i>EMEt</i> .....	31
6.6	Animales para experimentación.....	31
6.7	Pruebas Farmacológicas .....	32
6.7.1	Natación forzada (NF).....	32
6.7.2	Laberinto elevado en forma de cruz (LEC) .....	33
6.7.3	Campo abierto (CA) .....	34
6.7.4	Potenciación del estado hipnótico de pentobarbital .....	35
6.8	Análisis estadístico .....	36
7	Resultados .....	37

7.1	Análisis de cromatografía en capa fina (CCF) .....	37
7.2	Actividad antidepresiva de <i>EMEt</i> .....	40
7.3	Actividad ansiolítica de <i>EMEt</i> (LEC) .....	41
7.4	Actividad ansiolítica de <i>EMEt</i> (CA) .....	46
7.5	Actividad sedante del <i>EMEt</i> (pentobarbital) .....	49
7.6	Actividad antidepresiva de <i>EMMm</i> (NF) .....	50
7.7	Actividad ansiolítica de <i>EMMm</i> (LEC).....	51
7.8	Actividad ansiolítica de <i>EMMm</i> (CA).....	55
7.9	Actividad sedante del <i>EMMm</i> (pentobarbital) .....	58
8	Discusión .....	60
9	Conclusiones .....	67
10	Perspectivas .....	68
11	REFERENCIAS.....	69
12	REFERENCIAS DE FIGURAS.....	80

## Índice de figuras

	Pág.
Figura 1. Estructura química de algunas benzodiazepinas	6
Figura 2. Representación gráfica del receptor GABA <sub>A</sub>	6
Figura 3. Sitio de acción de (ISRS)	11
Figura 4. Árbol de <i>Malpighia mexicana</i>	19
Figura 5. Hojas de <i>Malpighia mexicana</i>	19
Figura 6. Inflorescencia de <i>Malpighia mexicana</i>	20
Figura 7. Fruto de <i>Malpighia mexicana</i>	20
Figura 8. Distribución de <i>M. mexicana</i> en México	21
Figura 9. Árbol de <i>E. tinifolia</i>	22
Figura 10. Hojas de <i>E. tinifolia</i>	23
Figura 11. Inflorescencia de <i>E. tinifolia</i>	23
Figura 12. Fruto en maduración de <i>Ehretia tinifolia</i>	24
Figura 13. Mapa de la distribución de <i>Ehretia tinifolia</i> en México	25
Figura 14. Maceración	30
Figura 15. Destilación	30
Figura 16. Rotavapor	30
Figura 17. Destilación	30
Figura 18. Ratones CD-1	32
Figura 19. Administración de extracto y controles	33
Figura 20. Prueba de nado forzado, EMEt	33

Figura 21. Ratones en la prueba de nado forzado. <i>EMEt</i>	33
Figura 22. Ratón en la prueba de laberinto de cruz elevado, <i>EMEt</i>	34
Figura 23. Ratón en la prueba de laberinto de cruz elevado, <i>EMMm</i>	34
Figura 24. Ratón en la prueba de campo abierto, <i>EMEt</i>	35
Figura 25. Ratón en la prueba de campo abierto, <i>EMMm</i>	35
Figura 26. Prueba del estado hipnótico de pentobarbital	35
Figura 27. Destilación	37
Figura 28. Rotovapor y destilación	37
Figura 29. Maceración de extractos	37
Figura 30. Placa CCF fase normal 1. <i>EHMm</i> ; 2. <i>EHEt</i>	38
Figura 31. Placa CCF fase normal 1. <i>EAMm</i> ; 2. <i>EAEt</i>	38
Figura 32. Placa CCF fase normal 1. <i>EMMm</i> ; 2. <i>EMEt</i>	38
Figura 33. Placa CCF fase normal 1. <i>EHMm</i> ; 2. <i>EHEt</i> , Komarovsky	38
Figura 34. Placa CCF fase normal 1. <i>EAMm</i> ; 2. <i>EAEt</i> , Komarovsky	38
Figura 35. Placa CCF fase normal 1. <i>EMMm</i> ; 2. <i>EMEt</i>	38
Figura 36. Placa CCF fase normal 1. <i>EMMm</i> ; 2. <i>EMEt</i> , NP-PEG	39
Figura 37. Placa CCF fase reversa 1. <i>EMEt</i> ; 2. <i>EMMm</i> NP-PEG	39
Figura 38. Placa de CCF	40
Figura 39. Placa de CCF	40
Figura 40. Porcentaje de tiempo de inmovilidad en la prueba de NF ( <i>EMEt</i> )	41
Figura 41. Tiempo de permanencia en los brazos abiertos (LEC, <i>EMEt</i> )	42
Figura 42. Porcentaje de permanencia en los brazos cerrados (LEC, <i>EMEt</i> )	43
Figura 43. Porcentaje de permanencia en el centro (LEC, <i>EMEt</i> )	43

Figura 44. Entradas a los brazos abiertos (LEC, EM <i>Et</i> )	44
Figura 45. Entradas a los brazos cerrados (LEC, EM <i>Et</i> )	44
Figura 46. Número de asomadas (LEC, EM <i>Et</i> )	45
Figura 47. Número de estiramientos verticales (LEC, EM <i>Et</i> )	45
Figura 48. Número de bolos fecales (LEC, EM <i>Et</i> )	46
Figura 49. Número de cruces en la periferia (CA, EM <i>Et</i> )	46
Figura 50. Porcentaje de cruces en el centro (CA, EM <i>Et</i> )	47
Figura 51. Porcentaje de estiramientos verticales (CA, EM <i>Et</i> )	48
Figura 52. Número de acicalamientos (CA, EM <i>Et</i> )	48
Figura 53. Número de bolos fecales (CA, EM <i>Et</i> )	49
Figura 54. Tiempo de inmovilidad NF, EMM <i>m</i>	50
Figura 55. Tiempo en brazos abiertos (LEC, EMM <i>m</i> )	51
Figura 56. Tiempo en brazos cerrados en segundos (LEC, EMM <i>m</i> )	52
Figura 57. Tiempo en el centro (LEC, EMM <i>m</i> )	52
Figura 58. Número de entradas a brazos abiertos (LEC, EMM <i>m</i> )	53
Figura 59. Número de entradas a brazos cerrados (LEC, EMM <i>m</i> )	53
Figura 60. Número de asomadas (LEC, EMM <i>m</i> )	54
Figura 61. Número de estiramientos verticales (LEC, EMM <i>m</i> )	54
Figura 62. Número de bolos fecales (LEC, EMM <i>m</i> )	55
Figura 63. Número de cruces en la periferia (CA, EMM <i>m</i> )	56
Figura 64. Número de cruces en el centro (CA, EMM <i>m</i> )	56
Figura 65. Número de estiramientos verticales (CA, EMM <i>m</i> )	57
Figura 66. Número de bolos fecales (CA, EMM <i>m</i> )	57

Figura 67. Porcentaje de tiempo de latencia (pentobarbital, EMMm)	58
Figura 68. Porcentaje de tiempo de narcosis (pentobarbital, EMMm)	59

## Índice de tablas

	Pág.
Tabla 1. Principales clases de fármacos antidepresivos y su mecanismo de acción	9
Tabla 2. Coloración esperada para reveladores	31
Tabla 3. Lat=Latencia; Nar=Duración de la hipnosis; DE=Desviación estándar, $EMEt$	49

## Abreviaturas

- EMMm: Extracto metanólico de *Malpighia mexicana*.
- EHMM: Extracto hexanico de *Malpighia mexicana*.
- EAMm: Extracto acetónico de *Malpighia mexicana*.
- EMEt: Extracto metanólico de *Ehretia tinifolia*.
- EHEt: Extracto hexanico de *Ehretia tinifolia*.
- EAEt: Extracto acetónico de *Ehretia tinifolia*.
- N: Número de ratones, etc.
- LEC: Laberinto de cruz elevado.
- TA: Tiempo en brazos abiertos.
- TC: Tiempo en brazos cerrados.
- CA: Campo abierto.
- NF: Natación forzada.
- DZP: Diazepam.
- IMI: Imipramina
- mg/kg: Miligramo por kilogramo.
- ml: Mililitros.
- Lat: Latencia (Pérdida del equilibrio).
- T5: Tratamiento cinco (vehículo).
- T6: Tratamiento seis (fármaco).
- DE: Desviación estándar.
- CCF: Cromatografía de capa fina.
- NP-PEG: 2-aminoetildifenil borinato.
- Komarovsky: 4-hidroxibenzaldehído.
- NOM: Norma Oficial Mexicana.
- AcOEt: Acetato de etilo.
- Emax: Efecto máximo.
- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- NIMH: National Institute of Mental Health.
- TAG: Trastorno de ansiedad generalizada.
- TP: Trastorno de pánico.
- TOC: Trastorno obsesivo-compulsivo.
- TEPT: Trastorno de estrés postraumático
- SNC: Sistema nervioso central.
- BDC: Benzodiacepinas.
- Cl: Cloro

- Nar: Narcosis (duración de hipnosis inducida).
- T1: Tratamiento uno (extracto).
- T2: Tratamiento dos (extracto).
- T3: Tratamiento tres (extracto).
- T4: Tratamiento cuatro (extracto).
- UAEM: Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- °C: Grados Celsius.
- min: Minutos
- cm: Centímetros
- INEGI
- REBIOSH: Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla.
- g: Gramo
- UV: Ultra violeta.
- nm: Nanometro
- h: Hora.
- ADTC: Antidepresivos tricíclicos.
- ISRS: Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina.
- IRSN: Inhibidores de la recaptura de serotonina y noradrenalina.
- IMAO: Inhibidores de la monoamino oxidasa.
- IRMAO: Inhibidores reversibles de la MAO<sub>A</sub>.
- NA: Noradrenalina.
- MAO<sub>A</sub>: Monoamino oxidasa A.
- MAO<sub>B</sub>: Monoamino oxidasa B.
- REMIB: Red Mundial de la Información sobre la Biodiversidad.
- INPRF: Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente.



## Resumen

Dentro de la familia Malpighiaceae y Boraginaceae se han utilizado varias infusiones preparadas de las partes aéreas de diferentes especies vegetales que han sido utilizadas dentro de la medicina tradicional para el tratamiento de los nervios. En el presente trabajo de investigación se eligió a *Malpighia mexicana* perteneciente a la familia Malpighiaceae y *Ehretia tinifolia* perteneciente a la familia Boraginaceae, para determinar sus propiedades neurofarmacológicas a partir de infusiones de las partes aéreas. Los efectos ansiolíticos, antidepresivos y sedantes del extracto metanólico de *M. mexicana* y *E. tinifolia* (a dosis: 100, 200, 400 y 600 mg/kg) se analizaron utilizando los siguientes modelos: laberinto de cruz elevado (LEC), campo abierto (CA), natación forzada (NF) y actividad sedante con pentobarbital, en ratones CD-1 albinos machos, estos extractos fueron administrados por vía oral, tres veces (24, 18 y 1 h antes de la prueba) en laberinto de cruz elevado pudieron aumentar significativamente ( $p < 0.05$ ) el número de entradas, así como el tiempo pasado en los brazos abiertos, lo que indica un efecto similar al ansiolítico. Un efecto similar se observó en la prueba de campo abierto, el número de cruces en los cuadrantes aumento significativamente ( $p < 0.05$ ) logrando modificar algunos parámetros. En la prueba de natación forzada sólo se pudo observar un cambio en los parámetros en la especie de *E. tinifolia*, logrando un cambio significativo ( $p < 0.05$ ) ya que aumento el tiempo de movimiento en los ratones tratados, indicando un efecto similar al antidepresivo. Por otra parte, en la prueba de actividad sedante con pentobarbital, logró aumentar el tiempo de narcosis y disminuir el tiempo de latencia en ambas especies, demostrando tener un efecto significativo y similar al efecto sedante ( $p < 0.05$ ). En conjunto, estos resultados sugieren que dichos efectos se pueden deber por los siguientes compuestos químicos de origen vegetal (flavonoides, terpenos y cumarinas) presentes en los extractos metanólicos, los cuales fueron encontrados por cromatografía de capa fina (CCF) y reveladores específicos, además dichos extractos tienen un efecto similar a los extractos metanólicos de las siguientes especies vegetales: *G. glauca*, *H. brachiata* (Malpighiaceae) y *O. bracteatum*, *B. officinalis* (Boraginaceae).

## 1 Introducción.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define a la medicina tradicional como un gran avance en la aceptación de la sociedad y en la ciencia por el gran conjunto de conocimientos, aptitudes, creencias y experiencias por parte de los indígenas y no necesariamente deben ser explicables. Las enfermedades del sistema nervioso son muy importantes a nivel mundial, por ello se abarcará algunas de ellas: la ansiedad y depresión; según los datos y cifras de la OMS estas enfermedades tienen un alto porcentaje, más de 300 millones de personas padecen algún tipo de trastorno de depresión, los trastornos de ansiedad tienen un número de personas que lo padecen y rondan desde los 250 a 270 millones en el mundo, estas también pertenecen al término de los “nervios” los cuales se caracterizan por un estado de malestar físico y mental (Zolla et al., 1988). La definición de “susto” o “espanto” es muy común encontrarla en la medicina tradicional, es algo cultural, que generalmente se puede encontrar en las comunidades indígenas de nuestro país, esto se da cuando alguien experimenta un riesgo, es decir un “miedo” ya sea real o imaginario, todo esto debido a estímulos externos, presentando síntomas como insomnio, dolor de cabeza, pérdida de apetito, inclusive deterioro del individuo presentando náuseas y fatiga intensa (Zolla et al., 1988). En sí, el “susto” definido antropológicamente es muy similar al trastorno médico llamado ansiedad. Esto conlleva a una definición también de la medicina tradicional, que se presenta como “nervios” los cuales se caracterizan por un estado de malestar físico y mental, inclusive puede haber caída de cabello, dermatitis y debilidad, cualquier circunstancia que altere el estado de ánimo es interpretada como posible agente desencadenante (Zolla et al., 1990; Kandel et al., 2000). La ansiedad es el trastorno psiquiátrico más frecuente con prevalencia durante toda la vida útil, del 16,6% de las personas afecta significativamente su calidad de vida (Somers et al., 2006) y sus características familiares, sociales y económicas.

Durante muchos años se han evidenciado los efectos secundarios de los diferentes tratamientos farmacológicos empleados contra varios padecimientos. La presencia de estos, orilla a muchos pacientes a abandonar el tratamiento, con lo cual la remisión de los padecimientos no aparece y el sufrimiento se prolonga para los pacientes y sus familias. Debido a un notable incremento en la prevalencia de los trastornos nerviosos a

nivel mundial y los amplios efectos secundarios indeseables de los fármacos usados para su tratamiento, resulta de gran relevancia la búsqueda de sustancias biológicamente activas de origen vegetal que puedan reducir los diferentes trastornos nerviosos.

Las plantas medicinales son una fuente de productos naturales con actividad biológica encaminada a diversos padecimientos entre los que destacan los del sistema nervioso central. La especie *Malpighia mexicana* mejor conocida como “guachocote” pertenece a la familia Malpighiaceae que comprende 66 géneros y 1200 especies, se distribuye en Chiapas, Durango, Estado de México, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla y Yucatán (Guízar y Sánchez, 1991; Juárez, 1998; Maldonado Peralta et al., 2016, Dorado et al. 2005). El “guachocote” es comestible, se usa en la medicina tradicional contra afecciones estomacales, diabetes, escorbuto entre otros padecimientos (Morton, 1987). Se han realizado diversos estudios con plantas que pertenecen a diferentes géneros de la familia Malpighiaceae los cuales reportan que se han empleado en la medicina tradicional plantas de esta familia en diversos trastornos nerviosos en los cuales se han reportado los efectos sedante, antidepresivo, ansiolítico, anticonvulsivante, nootrópico y de mejora del aprendizaje (Argueta, 1994; Huerta-Reyes, et al., 2013).

Por otro lado, *Ehretia tinifolia* mejor conocida como “pingüica” pertenece a la familia Boraginaceae ha sido empleada en la medicina tradicional mexicana para calmar los nervios, para la retención de orina, tratamiento del vomito de sangre, contra enfermedades de los riñones, la Sociedad Mexicana de Historia Natural la reporta útil contra las úlceras pútridas (Guzmán, Reyes & Bonilla, 2014; Medicina Tradicional Mexicana, 2014). De tal forma que, ambas especies propuestas en esta investigación, al tener pocos o nulos estudios de actividad biológica y fitoquímica, abre un panorama importante para el descubrimiento de nuevos compuestos con actividad, frente a estos padecimientos. Asimismo, el objetivo del presente trabajo será evaluar el efecto de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia*, sobre el sistema nervioso en modelos *in vivo*

## 2 Antecedentes

### 2.1 Trastornos de ansiedad

La ansiedad es actividad neurológica normal cuando se presenta situaciones de peligro, es adaptativa; señala una amenaza potencial y puede ayudar a contribuir a dominar una situación difícil. El trastorno de ansiedad es una elevación del temor, que podría estar acompañado de un grado de alerta alto de miedo a un suceso o la muerte. Los síntomas son: aumento de la frecuencia cardíaca, aumento de la tensión arterial, inquietud, palpitaciones, temblor y sudor (Kandel et al., 2001). Este trastorno ya mencionado comúnmente se presenta junto con otros trastornos mentales o físicos, incluyendo el abuso de consumo de alcohol o sustancias (NIMH, 2010).

Existen diferentes tipos de trastornos de ansiedad y se dividen de la siguiente manera:

- **Trastorno de ansiedad generalizada (TAG)**

Se caracteriza por miedo excesivo y poco realista, con una duración de 6 meses o más. Los síntomas son tensión motora (temblores, sacudidas, dolores musculares, inquietud) e hiperactividad autónoma (aumento de la frecuencia cardíaca, frialdad de las manos, sudoración, palpitaciones) (Baldwin et al., 2008; Charney et al., 1987).

- **Trastorno de pánico (TP)**

Se caracteriza por ataques de terror espontáneos, acompañados de síntomas como un aumento de latidos anormales del corazón, debilidad, mareos, transpiración y desfallecimiento. Durante los ataques se puede presentar sensación de calor o frío, náuseas o sensaciones asfixiantes (NIMH, 2010).

- **Trastorno obsesivo-compulsivo (TOC)**

Se caracteriza por ser crónico con obsesiones y compulsiones recurrentes como manifestaciones predominantes. Las obsesiones pueden ser desde pensamientos, ideas, imágenes o impulsos persistentes y molestos (Baldwin et al., 2008; Charney et al., 1987).

- **Trastorno de estrés postraumático (TEPT)**

Este trastorno se desarrolla después de una experiencia no agradable o aterradorante, que puede involucrar daño físico o amenazas de daño físico (NIMH, 2010).

## **2.2 Sedantes**

Los sedantes son sustancias químicas que deprimen el sistema nervioso central (SNC), dando como resultado efectos potenciadores o contradictorios entre: relajación, calma, adormecimiento, reducción de la respiración, euforia, habla trabada, disminución del juicio crítico, retardo de ciertos reflejos y reducción de la ansiedad.

En el año 1853 se utilizó la primera sustancia química como sedante y poco después como hipnótico, comercializando los primeros barbitúricos llamados barbifonal en 1903 y fenobarbital en 1912. Durante 1912 a la actualidad llegaron a sintetizarse cerca de 3000 benzodiazepinas, de las cuales se aprobaron alrededor de 120 y más de 30 continúan usándose en la actualidad, el primer fármaco antagonista competitivo de las benzodiazepinas se descubrió en el año de 1981. A este grupo también se les conoce como ansiolíticos debido a su capacidad para reducir la ansiedad. (Escohotado, 1995; Rang et al; 2008).

### **2.2.1 Sedación**

Muchos agentes pueden deprimir la función del sistema nervioso central y producir calma o somnolencia (sedación). Los depresores del SNC discutidos en este capítulo incluyen benzodiazepinas, otros agonistas del receptor de benzodiazepinas (los "compuestos Z"), barbitúricos, y agentes sedantes-hipnóticos de diversa estructura química. Los fármacos sedantes-hipnóticos más antiguos deprimen el SNC de forma dependiente de la dosis, produciendo progresivamente un espectro de respuestas desde la sedación leve hasta el coma y la muerte. Un medicamento sedante disminuye la actividad, modera la excitación y calma al receptor, mientras que un medicamento hipnótico produce somnolencia y facilita la aparición y el mantenimiento de un estado de sueño que se asemeja al sueño natural en sus características electroencefalográficas y desde el cual el receptor puede despertarse fácilmente. La sedación es un efecto secundario de muchos medicamentos que no son depresores generales del SNC (p. Ej., Antihistamínicos y agentes

antipsicóticos). Aunque tales agentes pueden intensificar los efectos de los depresores del SNC, generalmente producen efectos terapéuticos más específicos a concentraciones mucho más bajas que las que causan una depresión sustancial del SNC. Por ejemplo, no pueden inducir anestesia quirúrgica en ausencia de otros agentes. Los hipnóticos sedantes benzodiazepínicos se parecen a tales agentes; aunque el coma puede ocurrir a dosis muy altas, las benzodiazepinas no producen anestesia quirúrgica ni intoxicación mortal en ausencia de otras drogas con acciones depresoras del SNC; Una excepción importante es el midazolam, que se ha asociado con una disminución del volumen corriente y de la frecuencia respiratoria. (Mihic, S. J., & Harris, R. A. 2011).

### **2.2.2 Fármacos ansiolíticos e hipnóticos**

Los fármacos hipnóticos producen somnolencia y estimula el inicio y mantenimiento de un estado de sueño. Los efectos relacionados a los hipnóticos implican una depresión más pronunciada del SNC que la sedación (Trevor y Way, 2005).

Los usos clínicos de sedantes-hipnóticos son:

- Alivio de la ansiedad
- Hipnosis
- Sedación y amnesia antes de procedimientos médicos y quirúrgicos
- Para el tratamiento de la epilepsia y estados convulsivos
- Relajación muscular en trastornos neuromusculares específicos
- Como auxiliares de diagnóstico o para tratamiento en psiquiatría (Trevor y Way., 2005).

Las benzodiazepinas son los fármacos más importantes con actividad sedantes-hipnóticos, son utilizadas para el tratamiento de la ansiedad (Taylor y Nutt, 2004; Litter, 1988). En el grupo de sedantes se encuentran los barbitúricos y benzodiazepinas (Figura 1), estos últimos han sustituido a los barbitúricos, debido a que son más seguros en lo que respecta al riesgo de sobredosis y toxicidad (Lewis et al., 2004).

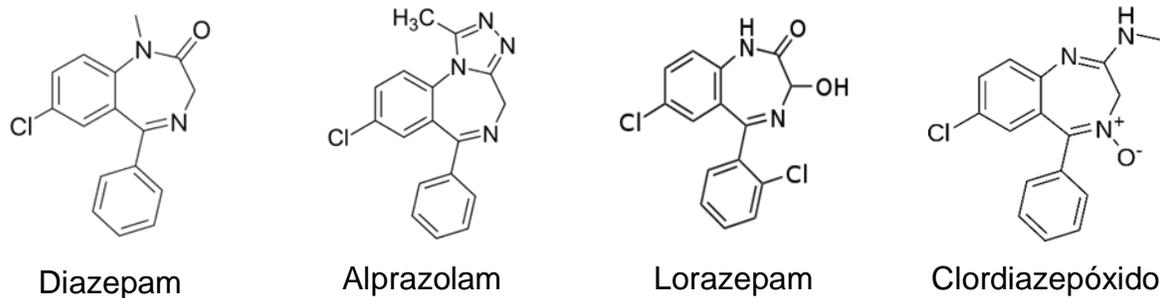


Figura 1. Estructura química de algunas benzodiacepinas. Basado en: Trevor y WAY, 2005.

### 2.2.3 Mecanismo general de acción de las benzodiacepinas

Las funciones de los receptores GABAérgicos de tipo GABA<sub>A</sub> son alterados por las acciones de algunos fármacos hipnóticos-ansiolíticos, entre los que destacan, las benzodiacepinas (BDC), los mecanismos de acción de este grupo de fármacos se basa en la potenciación del GABA, debido a la unión de la interfase de las subunidades  $\alpha$  y  $\gamma$  del receptor GABA<sub>A</sub>, esto induce un aumento de la frecuencia de apertura de los canales Cl<sup>-</sup> activados por este ligando, manifestándose en forma de efectos inhibitorios sobre la célula postsináptica (Figura 2) (Taylor y Nutt, 2004; Dawson et al., 2003).

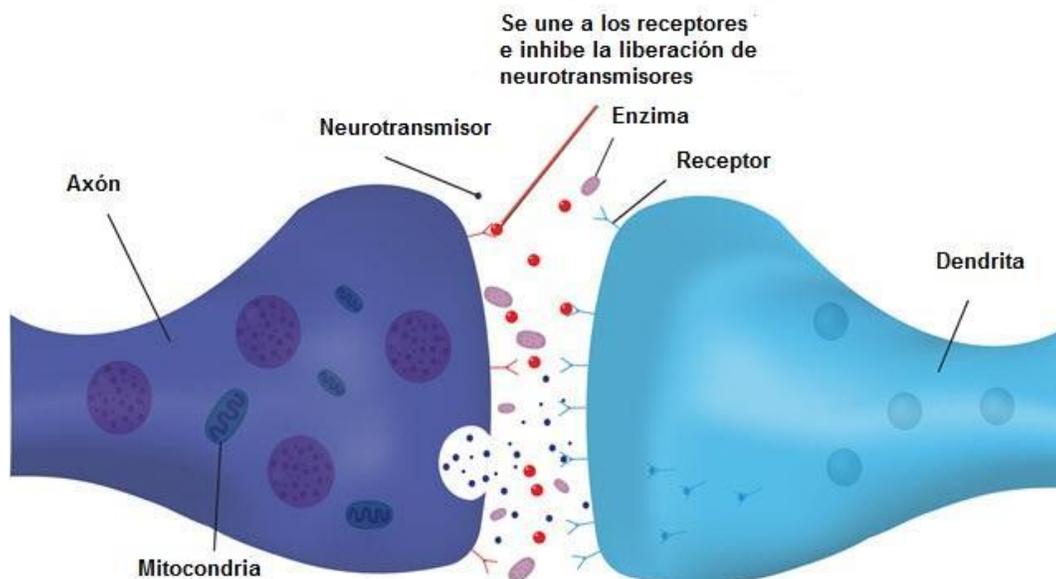


Figura 2. Representación gráfica del receptor GABA<sub>A</sub> y de cómo se altera su actividad por causa de las benzodiacepinas (BDC, benzodiacepinas; GABA, ácido gama-aminobutírico; Cl<sup>-</sup>, ion cloruro) ("Benzodiacepinas: mecanismo de acción, usos y efectos - Lifeder", 2020).

#### **2.2.4 Efectos secundarios de las benzodiazepinas**

Los efectos secundarios de las benzodiazepinas son: ataxia, afeción psicomotora y somnolencia. La dependencia ronda desde la 4-6 semana, y es tanto física como mental (Taylor y Nuttt, 2004; Dawson et al., 2003).

### **2.3 Trastornos de depresión**

La depresión unipolar, es el principal trastorno del estado ánimo, fue descrito por Hipócrates en el siglo V A.C. Hipócrates pensaba que los estados de ánimo dependían del equilibrio entre cuatro humores, los cuales son: bilis amarilla, bilis negra, flema y sangre. Se pensaba que la depresión estaba causada por un exceso de bilis negra (Kandel et al., 2001).

La depresión mayor y la distímia (menor) son síndromes de depresión puros, mientras que los trastornos bipolar y ciclotímico significan depresión en relación con manía (Potter y Hollister, 2005).

El trastorno de la depresión es una enfermedad muy común pero grave e interfiere con la vida cotidiana, el funcionamiento normal y causa dolor, tanto para la persona que padece depresión como para quienes lo rodean. Los estudios realizados para el entendimiento del trastorno de la depresión ha dado lugar al desarrollo de medicamentos, psicoterapias y otros métodos para tratar a las personas con este trastorno incapacitante (NIMH, 2010).

#### **2.3.1 Trastorno depresivo distímico**

Este trastorno se caracteriza por que se presenta a largo plazo (dos años o más). Los síntomas pueden no parecer preocupantes para una incapacitación, pero puede provocar que no funcione con normalidad. Se sabe que las personas con distímia pueden experimentar uno o más episodios de depresión mayor durante su vida (NIMH, 2010). Existen algunas formas de trastorno depresivo que presentan ligeramente diferentes características, incluyen:

- **Depresión psicótica**

Se manifiesta cuando hay presencia de psicosis, como una ruptura con la realidad, alucinaciones e ideas delirantes.

- **Depresión posparto**

Se presenta después del parto de una mujer, se estima que el 10 al 15% de las mujeres experimentan depresión tras dar a luz.

- **Trastorno efectivo estacional (SAD)**

Se caracteriza por la aparición de una enfermedad depresiva durante los meses de invierno, cuando hay menos luz del sol. La depresión generalmente desaparece durante la primavera y el verano (NIMH, 2010).

### **2.3.2 Trastorno depresivo bipolar (Trastorno maníaco depresivo)**

El trastorno depresivo bipolar se caracteriza, cuando un paciente puede pasar del estado depresivo a la euforia y viceversa, con bastante rapidez, a veces en cuestión de minutos. Los episodios maníacos que puede presentar este trastorno en cuestión son ánimo exaltado, expansivo o irritable que puede durar al menos una semana, estos episodios son acompañados de los siguientes síntomas: aumento de la energía, disminución de la necesidad de dormir, fuga de ideas, grandiosidad, indiscreción social, locuacidad, libido y tendencia a distraerse. En casos graves pueden presentarse delirios y alucinaciones (Manji et al., 2001).

### **2.3.3 Trastorno depresivo mayor (Trastorno unipolar)**

Este trastorno se caracteriza por un estado de ánimo disfórico que está presente durante la mayor parte del tiempo, los episodios pueden manifestarse con: incapacidad para experimentar placer y una pérdida generalizada de interés por las cosas. Los síntomas son: alteración del sueño, culpa, disminución del apetito, disminución del impulso sexual, inquietud para concentrarse, indecisión, pensamientos sobre la muerte y el suicidio (Kandel et al., 2001).

### 2.3.4 Fármacos antidepresivos

Los fármacos antidepresivos se clasifican por función de su estructura química, de su mecanismo de acción y de su cronología de aparición (López et al., 2006). Las generaciones de los fármacos se pueden clasificar de la siguiente manera (Tabla 1):

- **Antidepresivos de la primera generación:** La mayoría de ellos son tricíclicos, como lo es la amitriptilina, clomipramina, desipramina, imipramina y nortriptilina
  - **Antidepresivos de la segunda generación:** Son heterogéneos en su estructura química, estos incluyen la maprotilina, la mianserina y la viloxacina
- Antidepresivos de la tercera generación:** Se constituye por los inhibidores de la recaptación de la serotonina (citalopran, fluoxetina, fluvoxamina, nefazodone, paroxetina y trazodone) (Flórez et al., 2005; Baños y Farre, 2002).

Tabla 1. Principales clases de fármacos antidepresivos y su mecanismo de acción (Dawson et al., 2003).

<b>Clases de fármacos antidepresivos</b>	<b>Ejemplo</b>	<b>Modo de acción</b>
Antidepresivos tricíclicos (ADTC)	Amitriptilina Imipramina Lofepramina	Bloqueadores inespecíficos de la captación de monoaminas
Inhibidores de la recaptación de serotonina (ISRS)	Fluoxetina Paroxetina Sertralina	Bloqueo selectivo de la recaptación de 5-HT
Inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina (IRSN)	Venlafaxina	Bloqueo de la recaptación de 5-HT y noradrenalina
Inhibidores de la monoaminooxidasa (IMAO)	Fenelzina Tranilcipromina	Bloqueo irreversible no competitivo y no selectivo de la MAOA y la MAOB
Inhibidores reversibles de la MAOA (IRMAO)	Moclobemida	Inhibición reversible de la MAOA de forma selectiva

Antidepresivos atípicos	Reboxetina Mirtazapina	Acción a través de una serie de mecanismos no bien definidos.
-------------------------	---------------------------	---

### 2.3.5 Mecanismos generales de acción de los antidepresivos

Descripción de los mecanismos de acción de solo algunos de las principales clases de antidepresivos (Figura 3):

- **Antidepresivos tricíclicos (ADTC)**

Estos fármacos actúan bloqueando la captación por la terminación presináptica de la serotonina (5-Hidroxitriptamina, 5-HT) y la noradrenalina (NA) existentes en el espacio sináptico (Dawson et al., 2003). El fármaco mayor utilizado para la validación farmacológica de los modelos biológicos es la imipramina (Mason et al., 2008).

- **Inhibidores de las monoaminooxidasas (IMAO)**

Se caracterizan por bloquear la acción de la MAO<sub>A</sub> y de la MAO<sub>B</sub>, que son enzimas que degradan a las monoaminas (noradrenalina, serotonina y dopamina) (Dawson et al., 2003).

- **Inhibidores de la recaptación de serotonina (ISRS)**

Se caracterizan por aumentar el neurotransmisor serotonina en el espacio extracelular, inhibiendo su recaptación por la neurona presináptica (Dawson et al., 2003).

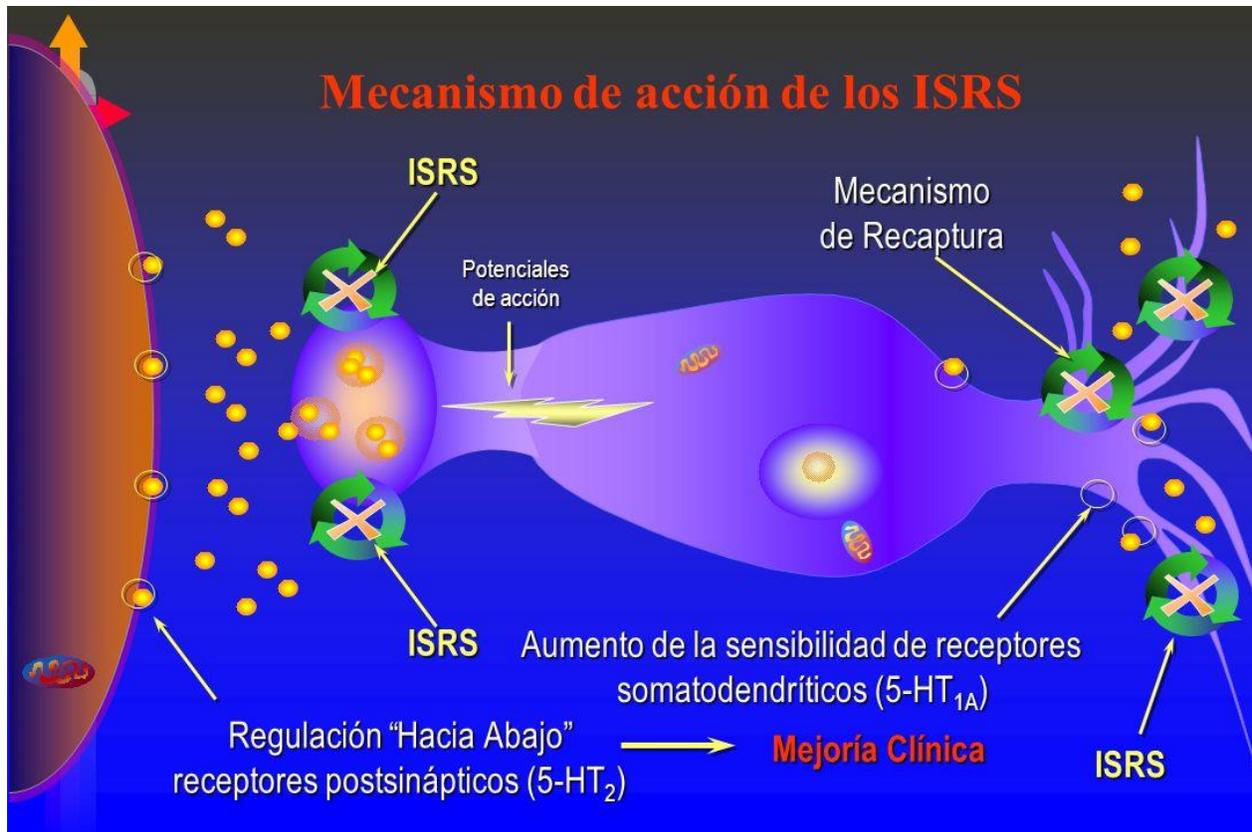


Figura 3. Sitio de acción de (ISRS) (Ontiveros, 2020).

### 2.3.6 Efectos secundarios de los antidepresivos

En ciertas personas los fármacos antidepresivos pueden provocar efectos secundarios, que por lo general pueden ser leves y temporales. Los más comunes son:

- Aumento de peso
- Bloqueo de la captación de noradrenalina en el corazón, con aumento del riesgo de arritmias
- Efectos por bloqueo adrenérgico del tipo hipotensión postural
- Efectos por bloqueo muscarínico, tales como la sequedad de boca, la visión borrosa y estreñimiento
- Efecto de bloqueo de histamina que originan sedación (Dawson et al., 2003; Mycek et al., 2006).

## **2.4 Fisiopatología de la ansiedad y depresión**

La ansiedad y la depresión son trastornos considerados diferentes entre sí, sin embargo, en algunos pacientes se pueden llegar a manifestar ambos trastornos en menor o mayor grado según sea el caso, a lo cual se le denomina comorbilidad (Schatzberg et al., 2006).

La ansiedad se presenta mediante estímulos de amenaza, de tal manera que el conjunto de respuesta conductuales-emocionales se da cuando existe un estímulo auditivo, olfatorio, somatosensorial y visual (Kaufman et al., 2005). Esta información se integra al SNC específicamente a las siguientes estructuras anatómicas la amígdala, el hipotálamo y el hipocampo (Southwick et al., 2005; Holsboer e Ising 2008). El sistema GABAérgico tiene participación a través del complejo receptor-ionóforo del cloruro (GABA<sub>A</sub>), el cual está involucrado en el control de la coordinación motora, aprendizaje, memoria, procesos de pánico, epileptogénesis y ansiedad (Vinci y Ortinski, 2004). La expresión de la ansiedad en la amígdala, está mediada por la regulación de diferentes sistemas de neurotransmisores y moduladores que son capaces de actuar sobre esta zona cerebral para ejercer efectos ansiolíticos (Davis, 2002).

En la depresión pueden presentarse alteraciones las cuales son: alteración en el sueño, apetito, conducta sexual y los cambios biológicos observados en pacientes deprimidos sugieren una disfunción del hipotálamo (Tortora y Derrickson 2006). La serotonina y la noradrenalina son neurotransmisores asociados a los trastornos de depresión, en donde un déficit en la transmisión de estos durante la sinapsis es la principal causa de la depresión, estos neurotransmisores se encuentran en el núcleo del rafé y locus coeruleus, estos tienen comunicación con la corteza e hipocampo (Maletic et al., 2007; Bondy 2003).

La relación que tiene el sistema hipotalámico-pituitario-suprarrenal con los trastornos de ansiedad y depresión causados por estrés (Ables y Baughman, 2003; Abolí et al., 2002), las glándulas suprarrenales tienen una relación importante debido a que su función principal es de regular las respuestas al estrés a través de la síntesis de corticosteroides (principalmente cortisol) y catecolaminas (principalmente adrenalina) (Tortora y Derrickson 2006). La actividad neuroendocrina está relacionada con la liberación de corticotropina y vasopresina que afecta las principales áreas implicadas en la

neuroanatomía de la depresión y la ansiedad (Müller et al., 2003; Holsboer e Ising M, 2008).

Por tanto, se puede determinar que ambos trastornos están estrechamente relacionados y pueden ser ocasionados por cambios neuroadaptativos como resultado de una estimulación generada por el estrés (Landgraf, 2006; Ströhle, 2003).

## **2.5 Generalidades de la familia Malpighiaceae**

La familia Malpighiaceae está constituida por 77 géneros y 1300 especies distribuidas por el mundo (Anderson et al., 2010). En México existen 16 géneros y 73 especies (Juárez, 1998). En el estado de Morelos se reportan 15 especies, donde el género mejor representado es *Gaudichaudia sp* con 3 especies (Juárez, 1998). Las características distintivas de la familia son: la presencia de pelos “malpígeos” en el envés de las hojas; sus flores regularmente presentan 5 sépalos libres o ligeramente connados con par de glándulas de aceite abaxiales (aleióforos); tienen 5 pétalos unguilados y reflexos; androceo con 10 estambres alrededor de un ovario súpero tricapelar (Anderson, 1979). Una característica particular de la familia, es que la flor por lo regular tiene un pétalo simple modificado que se cree que tienen la función de orientar al polinizador (Taylor y Crepet, 1987).

Dentro de la familia ya mencionada, se han realizado varios estudios fitoquímicos, los cuales han evidenciado actividad ansiolítica, antidepresiva, anticonvulsivante y mejora de aprendizaje. De las plantas a destacar son las siguientes:

- ***Byrsonima crassifolia***

La especie *Byrsonima crassifolia* es un árbol ampliamente distribuido en México mejor conocida como “nanche” perteneciente a la familia Malpighiaceae, en medicina tradicional ha tenido reportes para la excitación nerviosa e induce mareos placenteros (Maldonado 2008). Esta planta ha tenido un estudio muy relevante en el extracto metanólico que demuestra su actividad como antidepresivo en la prueba farmacológica de nado forzado, pero no cuenta con actividad ansiolítica, sedante, anticonvulsivo y no causa una reducción de locomoción en los ratones que se utilizó en el estudio. Dicho efecto antidepresivo tuvo relación a la concentración de quercetina 3-O-xilósido (12 mg / kg),

pero los investigadores piensan que los flavonoides, como la rutina (4.4 mg / kg), quercetina (1.4 mg / kg) y hesperidina (0.7 mg / kg), pueden estar relacionados en los efectos antidepresivos (Herrera-Ruiz et al., 2011).

- ***Galphimia glauca Cav***

La especie *Galphimia glauca Cav.*, conocida popularmente "calderona amarilla", "flor estrella", "ojo de gallina", "hierba del cuervo", y es utilizado como sedante (Argueta, 1994), en medicina tradicional se utiliza para el tratamiento de la excitación nerviosa (Tortoriello y Lozoya, 1992); un estudio fitoquímico, demostró la presencia de los triterpenos galphiminas A, B y C (Guzmán, Reyes & Bonilla, 2014). Estudios farmacológicos de esta especie, han demostrado la actividad antiinflamatoria de galphiminas (González et al., 2014). Se logró demostrar que el extracto metanólico de *G. glauca* (estandarizado con 8.3 mg/g de G-B) posee un efecto ansiolítico sobre ratones en el laberinto elevado en forma de cruz, además de un efecto ansiolítico dosis-dependiente en la prueba de claro-oscuro el cual no se atribuye necesariamente a la concentración de G-B en el extracto (Herrera-Ruiz, et al., 2006). Las galphiminas G-B, G-E y G-A, contenidas en el extracto metanólico ejercen una actividad ansiolítica en el mismo modelo, los principales factores determinantes para que se lleve a cabo la actividad ansiolítica son la presencia de grupos hidroxilo libres en las posiciones C4, C6 y C7, así como la presencia de la doble ligadura en el anillo A (González-Cortázar, et al., 2006; Maribel Herrera-Ruiz et al., 2006).

- ***Heteropterys brachiata***

La planta *Heteropterys brachiata* ha tenido efectos muy importantes a nivel neurofarmacológicos. En México es mejor conocida como "bejuco de margarita" y se distribuye por los trópicos y subtrópicos, el "bejuco" ha sido utilizado en la medicina tradicional principalmente para el tratamiento de trastornos nerviosos (Argueta et al., 1994). De acuerdo con el estudio fitoquímico, el extracto *metanólico* fue elaborado con las partes áreas de la planta, las cuales fueron recolectadas en el estado de Morelos, México (en la latitud 181470 24.500 norte y longitud 991100 12.100 oeste) en septiembre de 2007. Dicho extracto (*HbMeOH*) fue probado en ratones albinos ICR con un peso de 30-36g. Las pruebas farmacológicas que se llevaron a cabo fueron: nado forzado (NF) con una concentración de extracto de 500 y 750mg/kg de dosis, laberinto en forma de

cruz elevado para la ansiedad, teniendo efecto a una dosis de 500 a 1500 mg/kg y contra la actividad del pentilentetrazol (PTZ) la dosis utilizada fue de 500mg/kg, esta misma dosis de extracto fue utilizada para la prueba de pentobarbital (PTB) como sedante, teniendo resultados favorables. Los principales compuestos del extracto *HbMeOH* son ácidos hidroxicinámicos y tipo triterpeno que a su vez estos compuestos han evidenciado que poseen efectos antidepresivos y ansiolíticos (Huerta-Reyes et al., 2013).

- ***Heteropterys cotinifolia***

En el estudio realizado con *Heteropterys cotinifolia* se evaluó la actividad neurofarmacológica y fitoquímica. En la medicina tradicional se sabe que la familia Malpighiaceae ha sido utilizada para el tratamiento de los desórdenes nerviosos (Juarez, 1998). En México los datos geográficos de distribución parecen contribuir que *Heteropterys cotinifolia* es una especie endémica de México. Las pruebas farmacológicas realizadas fueron nado forzado, puente elevado en forma de cruz y campo abierto, se hicieron con la cepa ICR de ratones, las cuales han evidenciado tener aceptación por la comunidad científica para medir los niveles de ansiedad y depresión. El extracto *HcMeOH* tuvo actividad favorable antidepresiva aplicando una dosis dependiente de 31 a 310 mg/kg en la prueba de nado forzado, teniendo un mayor movimiento durante la prueba y este efecto antidepresivo es dependiente de la dosis en la prueba de natación forzada en ratones a dosis de 31 a 310 mg / kg esta prueba se caracteriza por la inmovilidad del roedor entre menos movimiento se podría decir que el ratón entro en desesperanza. Cabe destacar que para las pruebas ansiolíticas no se encontraron resultados, el estudio determinó que los compuestos involucrados en la actividad antidepresiva son el ácido clorogénico y la rutina (Huerta-Reyes et al., 2013).

## **2.6 Generalidades de la familia Boraginaceae.**

La familia Boraginaceae está comprendida por 150 géneros y 2700 especies en el mundo, de las cuales solo 28 géneros y 299 especies se encuentran en México, se reconocen seis subfamilias. Las especies mexicanas se ubican en las subfamilias: Cordioideae (zazaniil, barredor, nopo y otros), Ehretioideae (mandimbo), Heliotropioideae (Hierba del alacrán, del fuego, y otras) y Boraginoideae (Tlachichinol). Son plantas con flores, algunos son árboles, hierbas y algunas trepadoras. Los siricotes, bojones y mandimbos

son árboles, con troncos rectos y copas bien definidas, pero otras especies pueden ser hierbas, arbustos o trepadoras. Las partes vegetativas tienen pelos duros, usualmente unicelulares. Las especies desnudas son raras. Sus hojas son alternas, raramente las hojas de la base son opuestas, aunque en algunas especies son todas opuestas. Las flores se desarrollan al final de las ramas o en las axilas de las hojas y crecen en zigzag. En algunos casos esto ocasiona un enrollamiento que se conoce como cima escorpioidea (cima cincinada) con las flores más jóvenes hacia la punta y las más desarrolladas cerca de las hojas. En la flor, el ovario está inmerso debajo de la inserción de los pétalos, los cuales en muchos casos están fusionados. Algunas especies tienen los sexos separados (dioicas), pero la mayoría tienen flores perfectas (monoicas). La corola usualmente forma un tubo. Los estambres están adheridos al tubo de la corola. El ovario tiene dos carpelos con 1 a 4 lóculos y estilo con 1 a 4 estigmas (Lira-Charco y Ochoterena, 2012).

En la medicina tradicional han utilizado ciertos miembros de la familia Boraginaceae para el tratamiento de los nervios y como calmantes de estos, unas de ellas a destacar son:

- ***Borago officinalis***

La especie *Borago officinalis* ha tenido un estudio fitoquímico que demuestra su actividad ansiolítica, en dicho estudio utilizaron la prueba farmacológica de laberinto en forma de cruz elevado (LEC), utilizando las flores para la elaboración del extracto, el cual se obtuvo por medio de maceración con etanol al 70%. Como resultados obtuvieron que por medio de aplicación intraperitoneal de la inyección antes del ensayo de (LEC), aumento el tiempo pasado del ratón en los brazos abiertos, mientras que el extracto no tuvo efecto sobre el número de entradas de brazo cerrado. Concluyendo que el extracto si tiene una actividad ansiolítica en ratas wistar macho de 220-250 gramos, pero no se sabe los mecanismos exactos de que compuestos activos son los que ejercen dicha actividad, por ello se sugiere que se realicen más estudios (Komaki, Rasouli and Shahidi, 2015).

- ***Echium amoenum***

Otra planta a destacar es la especie *Echium amoenum*, en Irán han utilizado la flor como calmante de la ansiedad y para el aumento del estado de ánimo. En un estudio reciente, el extracto acuoso de *E. amoenum* fue administrado en animales y los resultados

mostraron que el extracto tenía efectos ansiolíticos (Shafaghi et al., 2002), debido a estos reportes se ha realizado un estudio fitoquímico para poder evaluar la eficacia y seguridad del extracto acuoso de las flores de dicha especie ya mencionada para el tratamiento del trastorno obsesivo compulsivo y ansiedad, en dicho experimento se contó con cuarenta y cuatro pacientes los cuales fueron seleccionados aleatoriamente para la aplicación del extracto acuoso de *Echium amoenum* con una concentración de 500 mg/día por 6 semanas, el extracto mostró actividad favorable sobre la reducción de obsesivo y compulsivo y síntomas de ansiedad (Sayyah et al., 2009), no se sabe que compuestos químicos son los principios activos, por ello se sugiere más estudios.

- ***Echium italicum***

*Echium italicum* perteneciente a la familia Boraginaceae tiene efecto ansiolítico e hipnóticos, para demostrar dicho efecto los extractos de la fase acuosa y etanólicos de las partes áreas de *E. italicum* fueron probados en pruebas farmacológicas las cuales son, la inducción de sodio pentobarbital, laberinto elevado en forma de cruz (LEC), campo abierto (CA) y prueba de rotarod. Dichas pruebas fueron realizadas con ratones BALB / c y como resultados obtuvieron que los extractos etanólicos y acuosos de *E. italicum*, a dosis de 1.2 y 2.1 g / kg, aumentó el tiempo y el número de entradas a los brazos abiertos en la prueba de laberinto elevado en forma de cruz (LEC), y disminuyó el porcentaje de tiempo pasado en los brazos cerrados. Por otro lado, ambos extractos tuvieron una disminución a la latencia inducida por pentobarbital para dormir y aumentó notablemente el tiempo total de sueño inducido por pentobarbital. Además, la actividad locomotora se vio afectada por extractos acuosos y extracto etanólico (a mayores dosis). Ambos extractos no evidenciaron ningún efecto en la prueba de rotarod. Debido a la presencia de compuestos de tipo flavonoide, se piensa que ambos extractos deben su actividad a dichos compuestos químicos, pero se sugiere que se realicen más estudios sobre los compuestos activos (Hosseinzadeh, Shahandeh and Shahsavand, 2012).

- ***Onosma bracteatum***

En el estudio titulado Dependiente de la dosis, antidepresivo y efectos ansiolíticos de un medicamento tradicional para el manejo del comportamiento y disfunciones en modelos animales de la especie vegetal *Onosma bracteatum* perteneciente a la familia

Boraginaceae. Se utilizaron ratones albinos suizos (machos) los cuales fueron alimentados por vial oral con el extracto hidroalcohólico en las siguientes dosis de (50, 100 y 200 mg/kg) a una hora antes de la evaluación, los controles positivos fueron los siguientes fármacos diazepam (LEC) (CA) y fluoxetina (NF). Para la evaluación del efecto antidepresivo, *O bracteatum* disminuyó considerablemente el tiempo de inmovilidad y aumentó el tiempo de movilidad en el modelo de natación forzada de forma dependiente de la dosis. Del mismo modo, *O bracteatum* amplió el período de movilidad junto con la disminución del tiempo de inmovilidad en el método de suspensión de cola en forma dependiente de la dosis. La actividad ansiolítica se evaluó mediante laberinto de cruz elevado y campo abierto, los resultados de la prueba de campo abierto mostraron un aumento en el número de cruces de línea, así como en el número de cruces en el centro teniendo una respuesta dependiente de la dosis. Aunque los resultados de la prueba elevada más laberinto evidentemente mostraron un efecto de ansiolítico de *O bracteatum* al aumentar el tiempo que se pasa en los brazos abiertos junto con la disminución del tiempo que se pasa en los brazos cerrados en dosis dependientes. Los resultados demostraron que la planta a la dosis de 200 mg/kg de peso corporal mostraron un potencial significativo similar al del diazepam y la fluoxetina estándar, por lo tanto, *O bracteatum* puede usarse como potente agente psicoterapéutico natural contra los trastornos mentales (Asif, Hayee, Aslam, Ahmad & Hashmi, 2019).

## **2.7 Plantas a estudiar:**

### **2.7.1 *Malpighia mexicana* JUSS (Malpighiaceae).**

La especie *Malpighia mexicana* también conocida como “guachocote” o “nanche rojo”, crece adecuadamente en suelo negro arcilloso, así como selva baja caducifolia, se encuentran entre los 240 y 1,880 msnm (Monroy–Ortiz y Monroy, 2006; Jarquín 2010). Existen muy pocos estudios sobre qué actividad podría poseer, en algunas comunidades es mayormente utilizado como desinfectante de heridas, diarrea y para la tos ("Medicina Tradicional Mexicana", 2014).

#### **2.7.1.1 Ubicación taxonómica**

La clasificación está de acuerdo con la base de datos Trópicos.org del Jardín Botánico de Missouri (2016) la clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino: Plantae

Clase: Equisetopsida C. Agardh.

Subclase: Magnolilidae Novak ex Takht.

Orden: Malpighiales Juss. Ex Bercht. & J. Presl.

Familia: Malpighiaceae Juss.

Género: *Malpighia* L.

Especie: *Malpighia mexicana* A. Juss.

### 2.7.1.2 Descripción

De acuerdo con la Flora de Nicaragua (2009) son arbustos o árboles pequeños, 2-8 m de alto (figura 5); los tallos son densamente tomentosos cuando el árbol es joven, y eventualmente glabrescentes (Figura 4). A su vez las hojas son regularmente espaciadas, separadas por entrenudos, láminas de las hojas más grandes elípticas u ovadas, con 4.5-13.5 cm de largo y 2-7.5 cm de ancho, agudas, cortamente acuminadas, obtusas o redondeadas en el ápice, cuneadas a truncadas en la base, con 2 glándulas en el 1/3 proximal del envés entre el nervio principal y el margen pero más cerca al margen, persistentemente tomentosas en el envés o glabrescentes al madurar con algunos tracomas retorcidos comúnmente persistentes al menos en el nervio principal; pecíolo 4–10 mm de largo, estípulas libres (Figura 5).



Figura 4. Árbol de *Malpighia mexicana*. Avilés-Montes, D. (2019).



Figura 5. Hojas de *Malpighia mexicana*. Avilés-Montes, D. (2019).

La umbela puede tener de 4-12 flores, pedúnculo de la inflorescencia 10-20 mm de largo, brácteas mayormente 2-3.5 mm de largo; sépalos con 10 glándulas; pétalos abaxialmente lisos o angostamente carinados en la uña y parte inferior del limbo, glabros, rosados o rosados y blancos, el limbo variando desde subentero o levemente lacerado proximalmente en los pétalos anteriores a profundamente lacerado alrededor de todo el margen en el pétalo posterior; ovario glabro o laxamente tomentoso distalmente, estilos inicialmente erectos pero a veces divergentes desde la base con la edad, dorsalmente redondeados o truncados en el ápice, los estigmas internos (Figura 6). Fruto 12-15 mm de largo y 15-20 mm de ancho, glabro rojo al madurar; pirenos permaneciendo unidos o separados pero contenidos en una pulpa común al madurar (Figura 7).



Figura 6. Inflorescencia de *Malpighia mexicana*.  
(Malpighia, n.d.).



Figura 7. Fruto de *Malpighia mexicana*. Avilés-  
Montes, D. (2019).

### 2.7.1.3 Origen y distribución.

La especie *Malpighia mexicana* es una planta endémica de México. En el territorio mexicano los árboles de “nanche rojo” se encuentran distribuidos en los estados de Chiapas, Colima, Durango, Estado de México, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Veracruz, Yucatán y Zacatecas (Monroy-Ortiz y Monroy, 2006;

Red Mundial de Información sobre la Biodiversidad [REMIB], 2015; Jarquín, 2010; Rubí Arriaga *et al.*, 2014; JBM, 2016) (Figura8).



Figura 8. Distribución de *M. mexicana* en México. Pérez-Sarmiento, J.

### 2.7.2 *Ehretia tinifolia* (Boraginaceae)

La especie *Ehretia tinifolia* también conocida como “pingüica”, ha sido de mucha importancia para el uso de la medicina tradicional para personas indígenas, las cuales preparan las hojas para tratar trastornos nerviosos e inflamación renal; y los de corteza para enfermedades respiratorias y cicatrización de heridas (Benítez-Badillo *et al.*, 2004; Monrroy-Ortíz y Monrroy, 2006; Argueta y Mata, 2009a, 2009b). Márquez Salazar 1997, reporta que el fruto de *Ehretia tinifolia* también es utilizado como calmante de los “nervios”.

#### 2.7.2.1 Ubicación taxonómica

*Ehretia tinifolia* fue descrita por Carlos Linneo y publicado en *Systema Naturae*, 10ª Edición 2: 936. 1759. (designado por Miller, 1989): Jamaica, Browne s.n. (LINN-254.1). Ilustr.: Nash y Moreno, Fl. Veracruz 18: 61, t. 6 (1981) Su clasificación es la siguiente (Trópicos, 2017):

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta (phyta)

Clase: Equisetopsida C. Argardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht

Superorden: Asteranae Takht

Orden: Boraginales Juss. Ex Bercht. & J. P

Familia: Boraginaceae Juss.

Género: *Ehretia P. Browne*

Especie: *Ehretia tinifolia L.*

### 2.7.2.2 Descripción

Son árboles perennifolios que pueden llegar a medir hasta 25 m de altura y diámetro hasta de 50 cm. La especie es hermafrodita, tienen un tronco recto y la copa redondeada y densa, compuesta por ramas gruesas y ascendentes (Niembro et al., 2010). La corteza del tronco presenta fisuras de color pardo y estas no son profundas (Miranda, 1998; Figura 9).

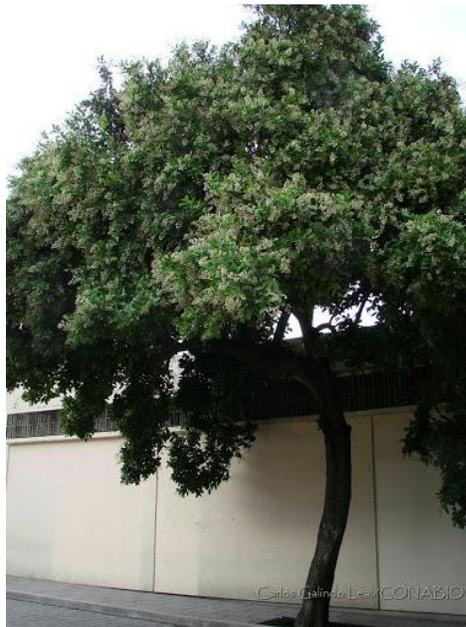


Figura 9. Árbol de *E. tinifolia*, (Galindo Leal, 2018).

Las hojas son de origen simples y alternas. Pueden llegar a medir desde los 4 a 14 cm de largo por 2.5 a 7 cm de ancho. La lámina es de forma oblonga, elíptica, elíptico-oblonga a ovada y lisas. Tienen un ápice redondeado a obtuso o agudo, la base

redondeada o ampliamente cuneada y el margen entero. Son de color verde oscuro y brillante en el haz y verde amarillentas en el envés (Niembro et al., 2010; Figura 10):



Figura 10. Hojas de *E. tinifolia*. Arcos-Álvarez, J. (2017).

Las flores son de tamaño pequeño, blancas y nacen agrupadas en panículas densas (Miranda, 1998). Son actinomorfas y tienen el cáliz de 1.5 a 2.5 mm de largo, la corola es blanca de 3.5 a 4 mm de diámetro, con 5 pétalos oblongos, 5 estambres y un estilo largo (Niembro et al., 2010; Figura 11).



Figura 11. Inflorescencia de *E. tinifolia*. Arcos-Álvarez, J. (2017).

Los frutos de este árbol se caracterizan por ser drupas globosas, subglobosas a ovoides de 5 a 7 mm de diámetro, tienen color amarillo al principio, después naranja a rojizo y púrpura en la madurez. Son camosos, contienen una pulpa delgada y blanquecina y dos pírenos elípticos, de 4 a 4.5 mm de largo por 3.7 a 4 mm de ancho. Cada fruto contiene una o dos semillas (Niembro et al., 2010; Figura 12).



Figura 12. Fruto en maduración de *Ehretia tinifolia*, conocida como pingüica. Imagen obtenida de: (Muñoz, Sánchez, Montejo, Herrera & Gamboa, 2012).

Las semillas tienen una forma curva, semicilíndricas, sin ranuras o surcos, de 3 mm de largo por 1.4 mm de diámetro. La testa es blanquecina lisa y membranosa, internamente la semilla carece de endospermo, tiene un embrión curvo, abundante, con los cotiledones no expandidos. (Niembro et al., 2010).

### **2.7.2.3 Origen y distribución.**

*Ehretia tinifolia* es una especie considerada nativa y originaria de las regiones tropicales húmedas y subhúmedas de América (Niembro et al., 2010).

El área de distribución en el mundo es: Belice, Cuba, Guatemala, México, Honduras, Islas Caimán, Jamaica, Haití y República Dominicana. En México se puede encontrar en los estados de: Guerrero, Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán, Quintana Roo, Chiapas, Oaxaca, Nayarit, Sinaloa, Tamaulipas, San Luis Potosí y Morelos. (Niembro et al., 2010; Figura 13).



Figura 13. Mapa de la distribución de *Ehretia tinifolia* en México. <http://www.tropicos.org>.

## 2.8 Fundamentos Farmacológicos

### 2.8.1 Laberinto elevado en forma de cruz (LEC)

El LEC es utilizado en la búsqueda de tratamientos contra la ansiedad (Zhang, 2004), es un modelo que mide la tasa de aproximación contra la evitación, al presentar una selección entre un ambiente que es seguro (brazos cerrados del laberinto) y un espacio que parece novedoso, pero con un alto nivel de riesgo (incremento en la exploración de los brazos abiertos) (File et al., 2000). En 1987 Lister hizo el experimento usando ratones suizos, y encontró que este modelo es también útil para evaluar la disminución de la ansiedad y la generación de ésta (Lister, 1987). Aunque los modelos animales no representan todos los aspectos de la ansiedad de los humanos se vinculan con ciertos tipos de ansiedad, y constituyen una herramienta para la comprensión del probable mecanismo de acción ansiolítica de diferentes sustancias (Bourin, 2015).

### 2.8.2 Campo abierto (CA)

El CA fue descrito para el estudio de la emocionalidad en ratas (Archer, 1973), el procedimiento consiste en colocar al roedor, a un medioambiente desconocido en donde la posibilidad de escape se previene por rodear el campo con paredes (Walsh & Cummins, 1975). El CA es ahora uno de los procedimientos más populares para investigar la conducta animal, sobre todo la valoración de la actividad motora (Prut & Belzung, 2003).

### **2.8.3 Natación forzada (NF)**

El modelo de natación forzada es una metodología que utilizó Porsolt en 1977 para determinar las acciones antidepresivas de sustancias (Porsolt et al., 1977). Este modelo es probablemente el más empleado en la búsqueda del potencial antidepresivo de un compuesto nuevo (McArthur y Borsino, 2006) o extracto y fracciones de plantas medicinales (Zhang, 2004). El parámetro más importante de esta prueba es el tiempo de inmovilidad de los animales cuando se los somete a una prueba de natación. Se ha demostrado que los fármacos antidepresivos tienen la capacidad de disminuir la duración del periodo de inmovilidad. Por lo cual, el modelo de natación forzada es una prueba farmacológica experimentalmente valida en búsqueda de sustancias de origen vegetal que pudieran tener eficacia antidepresiva en la clínica. Este modelo es sensible a los fármacos tricíclicos, inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (IMAO), inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS), cada uno de los cuales muestran una respuesta variable.

### **2.8.4 Modelo de potenciación del estado hipnótico de pentobarbital sódico**

Los barbitúricos fueron una vez empleados ampliamente como fármacos sedantes-hipnóticos. Excepto por unos pocos usos especializados, han sido ampliamente reemplazados por las benzodiazepinas que son mucho más seguras. Los barbitúricos deprimen reversiblemente todos los tejidos excitables. El sistema nervioso central es altamente sensible, y aun cuando los barbitúricos son dados en concentraciones anestésicas, los efectos directos sobre los tejidos excitables periféricos son débiles. Sin embargo, se presenta déficit grave en las funciones cardiovasculares y otras funciones periféricas se presentan en una intoxicación aguda de barbitúricos (Mihic, S. J., & Harris, R. A. 2011).

### 3 Justificación.

La Organización Mundial de la Salud maneja datos importantes en cuanto a enfermedades del sistema nervioso se refiere, alrededor de 450 millones de personas en el mundo padecen de algún tipo de trastorno del sistema nervioso. De acuerdo con el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, en la población mexicana existen 7% de personas con trastorno de angustia y pánico, 1.6% con trastorno bipolar, más del 1% con trastorno obsesivo compulsivo y 7% con depresión.

La OMS, ha reportado que el suicidio tiene relación con las enfermedades mentales, ocupando el quinto lugar en la población joven a nivel mundial, mientras que en México, el INEGI reporta al suicidio como la segunda o tercer lugar, dependiendo de la entidad federativa. Debido a los efectos tóxicos secundarios de los fármacos utilizados para las enfermedades mentales, es importante realizar estudios que conlleven a la búsqueda de nuevas sustancias medicamentosas de origen herbolario, que tengan efectos importantes frente a estos padecimientos, además y lo más importante, que puedan tener menos efectos indeseables.

Se sabe que plantas de la familia Malpigiaceae y Boraginaceae han evidenciado efecto sedante, ansiolítico, antidepresivo, nootrópico y mejoramiento del aprendizaje, de tal forma que, en este proyecto se presentan dos plantas pertenecientes a estas familias y que además tienen antecedentes en la medicina tradicional mexicana contra padecimientos de los “nervios” y de las cuales existen una escasa información científica, tal es el caso de *Malpighia mexicana* Juss y *Ehretia tinifolia*, que se encuentran presentes en la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla (REBIOSH) y que sus pobladores han hecho uso de ellas para padecimientos relacionados con los “nervios” o para el “susto”. De tal manera que el presente trabajo de investigación pretende aportar conocimientos acerca de los posibles efectos neurofarmacológicos de los extractos de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia*, especies que representan un recurso natural nacional.

## 4 Hipótesis

De acuerdo a reportes etnomédicos y científicos, existen especies dentro de las familias Malpighiaceae y Boraginaceae, que han evidenciado efectos ansiolíticos, antidepresivos y sedantes. Por lo que se espera que los extractos obtenidos de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia* que pertenecen a estas familias, presenten algún efecto a nivel neurofarmacológico como sedante, ansiolítico o antidepresivo.

## 5 Objetivos: general y específicos

### 5.1 Objetivo general.

Evaluar los efectos neurofarmacológicos de los extractos metanólicos de las especies *Malpighia mexicana* (Malpighiaceae) y *Ehretia tinifolia* (Boraginaceae) en modelos biológicos.

### 5.2 Objetivos particulares.

- Realizar la recolecta del material vegetal en la (REBIOSH).
- Obtener el extracto metanólico de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia*.
- Determinar el efecto antidepresivo del extracto metanólico de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia* después de la administración oral en ratones CD-1 en la prueba de natación forzada.
- Determinar el efecto ansiolítico del extracto metanólico de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia* después de la administración oral en ratones CD-1 en la prueba de laberinto de cruz elevado y de campo abierto.
- Determinar el efecto sedante del extracto metanólico de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia*, después la administración oral en la prueba de hipnosis inducida con pentobarbital.
- Identificar los principales grupos de compuestos de los extractos de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia*, mediante cromatografía en capa fina y reveladores específicos.

## **6 Materiales y métodos**

### **6.1 Experimental**

#### **6.1.1 General**

Para las pruebas farmacológicas se utilizaron imipramina y diazepam como controles positivos. Para la obtención de los extractos se emplearon 3 disolventes con polaridad creciente (*n*-hexano, acetona y metanol). Los extractos obtenidos de las plantas fueron analizados mediante la aplicación de métodos cromatográficos tradicionales como la cromatografía en capa fina (CCF). Se utilizó cromato placas de sílice 60 y fase reversa. Para revelar los compuestos presentes en las dos especies se utilizaron los reactivos Komarovsky y NP-PEG.

#### **6.2 Recolecta del material vegetal**

Ambas plantas fueron colectadas en los meses de marzo abril y mayo de 2019 en la REBIOSH. Una muestra de cada una de ellas, fue depositada en el herbario del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIByC-HUMO). El material vegetal fue identificado por el M. en C. Gabriel Flores Franco, curador del HUMO.

#### **6.3 Obtención de extractos**

Las partes aéreas de las plantas se secaron por separado a la sombra, a temperatura ambiente. Después se molieron y se obtuvo de cada planta 1 kg de hoja. 150 g de planta por separado fueron extraídas por maceración con tres disolventes de polaridad creciente (*n*-hexano, acetona y metanol) (Figura 14 y 15). La extracción para cada planta, se efectuó durante tres días por triplicado. El disolvente fue eliminado totalmente por destilación a presión reducida con la ayuda de un rotavapor Büchi R-215 (Figura 16 y 17), posteriormente los extractos fueron secados al vacío.



Figura 14. Maceración.



Figura 15. Destilación.



Figura 16. Rotavapor.



Figura 17. Destilación.

#### **6.4 Análisis de extractos por Cromatografía en Capa Fina (CCF)**

Los extractos se analizaron por cromatografía de capa fina fase normal (CCF; silica gel 60 F254) y cromatografía de fase reversa (KGaA, y se utilizaron reveladores para la identificación de grupos de compuestos de origen vegetal (terpenos y flavonoide). Los extractos se aplicaron en un extremo de la placa de aluminio recubierta de una fina capa de adsorbente (fase estacionaria: sílice). Posteriormente se colocó en una cámara a diferentes sistemas de polaridad (eluyente o fase móvil). A medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un bandeo diferencial de los productos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente. El proceso de adsorción se debe a interacciones intermoleculares de tipo dipolo-dipolo o enlaces de hidrógeno entre el soluto y el adsorbente. El adsorbente debe ser inerte con

las sustancias a analizar y no actuar como catalizador en reacciones de descomposición. Las placas se revelaron con 2-aminoetildifenil borinato (NP-PEG) y 4-hidroxibenzaldehído (Komarovsky) para la detección de compuestos de tipo flavonoide y de tipo terpenoide, respectivamente, posteriormente se observaron en una lámpara compacta de luz UV 95-0021-12 (115v) Uvp Uvgl-25 254/365nm donde se marcaron las bandas de compuestos. Los criterios para observar la presencia o ausencia de estos compuestos se basaron en el cambio de coloración e intensidad, después de la aplicación del revelador específico (Tabla 2) (Rizk, 1982; Wagner et al., 1994; Del castillo et al., 2004).

Tabla 2. Coloración esperada para reveladores.

Reveladores	Grupo de compuestos	Coloración esperada
2-aminoetildifenil borinato (NP-PEG)	Flavonoides	Amarillo-Naranja
4-hidroxibenzaldehído (Komarovsky)	Terpenos	Rosa-Violeta

### 6.5 Fraccionamiento de EMEt

El EMEt (1 g), se suspendió en acetona (20 ml) y otro gramo se suspendió en acetato de etilo (AcOEt, 20 ml) cada muestra por separado, durante 1 h. Cada mezcla (acetona y AcOEt) fue filtrada en un embudo Büchner. La fracción líquida de ambas muestras fue concentrada por destilación a presión reducida y posteriormente secada al vacío.

### 6.6 Animales para experimentación

Se emplearon ratones machos (*Mus musculus*) CD-1 con un promedio de peso de 25 g (Figura 18), adquiridos del bioterio de la Facultad de Medicina de la UAEM. El manejo de los animales de experimentación se llevó a cabo siguiendo la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de

animales de laboratorio.). Los ratones se acondicionaron en cajas de acrílico con una cama limpia de viruta de madera y se mantuvieron a una temperatura de  $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $70\% \pm 5\%$  de humedad con ciclos de 12 h de luz obscuridad con libre acceso a agua y alimento.



Figura 18. Ratones CD-1.

## **6.7 Pruebas Farmacológicas**

### **6.7.1 Natación forzada (NF)**

Se formaron 6 grupos de 5 ratones cada uno para realizar esta prueba de la siguiente manera: (T1 extracto 100 mg/kg; T2 extracto 200 mg/kg; T3 extracto 400 mg/kg; T4 extracto 600 mg/kg; T5 control negativo, solo agua; T6 control positivo imipramina 15 mg/kg). Posteriormente se emplearon cilindros de plástico de 17 cm de alto y un diámetro de 14 cm en una superficie plana, cada uno de ellos se llenó con agua ( $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) a una profundidad de 16 cm. Los cilindros fueron separados por bloques de cartón que tienen 6 divisiones, lo cual permitió el registro del comportamiento de 6 animales a la vez. El experimento se realizó en tres fases: la primera se denomina “de entrenamiento”, la cual consistió en exponer a cada ratón al cilindro lleno de agua durante 15 minutos, por una vez transcurrido este tiempo los animales fueron colocados sobre un paño limpio. Una vez realizado el “entrenamiento” los ratones fueron colocados en una caja con cama de viruta de madera limpia y expuestos a una lámpara de luz incandescente para su secado. El procedimiento se realizó por 3 días consecutivos. La segunda fase del experimento consistió en administrar el tratamiento correspondiente vía oral. En la tercera fase o fase de prueba, los animales se colocaron nuevamente dentro del cilindro y se evaluó su comportamiento durante 5 min. El parámetro que fue evaluado es “Tiempo de

inmovilidad” (tiempo en el cual los ratones realizan los movimientos mínimos para permanecer a flote y respirar). Al transcurrir el tiempo de la prueba, los animales fueron colocados en su cama de viruta de madera para su secado. Durante la primera y segunda fase, los cilindros se lavaron con una toalla de papel limpia y humedecida en etanol al 10% y vueltos a llenar con agua. Cada experimento fue filmado con una cámara de video para su análisis (Figura 19, 20 y 21).



Figura 19. Administración de extracto y controles.



Figura 20. Prueba de nado forzado.



Figura 21. Ratones en la prueba de nado forzado.

### 6.7.2 Laberinto elevado en forma de cruz (LEC)

Se formaron 6 grupos de 5 ratones cada uno para realizar esta prueba de la siguiente manera: (vía oral: T1 extracto 100 mg/kg; T2 extracto 200 mg/kg; T3 extracto 400 mg/kg; T4 extracto 600 mg/kg; T5 control negativo, solo agua; vía intraperitoneal: T6 control positivo diazepam 2 mg/kg). Para el laberinto elevado en forma de cruz se empleó un

laberinto construido de acrílico el cual tiene forma de cruz, el centro tiene 5 x 5 cm, los brazos abiertos y cerrados de 30 cm de largo x 5 cm de ancho; la altura de las paredes de los brazos cerrados de 15 cm. Los animales fueron colocados en el centro del laberinto y se registró por 5 minutos los parámetros de: tiempo de permanencia en brazos abiertos (TA) y brazos cerrados (TC), además de algunos parámetros etológicos como estiramientos verticales y horizontales, acicalamiento, asomadas, bolos fecales y entradas abrazos abiertos y cerrados. Un aumento en TA es indicativo de disminución de la ansiedad (Figura 22 y 23).



Figura 22. Ratón en la prueba de laberinto de cruz elevado, EMEt.



Figura 23. Ratón en la prueba de laberinto de cruz elevado, EMMm.

### 6.7.3 Campo abierto (CA)

Se formaron 6 grupos de 5 ratones cada uno para realizar esta prueba de la siguiente manera: (vía oral: T1 extracto 100 mg/kg; T2 extracto 200 mg/kg; T3 extracto 400 mg/kg; T4 extracto 600 mg/kg; T5 control negativo, solo agua; vía intraperitoneal: T6 control positivo diazepam 2 mg/kg). El dispositivo empleado para esta prueba es una caja construida con acrílico, la cual tiene paredes transparentes y un fondo negro (30 x 30 x 15 cm). El fondo está dividido en 9 cuadrados de la misma área; el dispositivo estuvo elevado del suelo 5 cm. La prueba consistió en colocar en el dispositivo al roedor y durante 5 minutos se registró el número de cruces totales en la superficie del campo

(suma del número de cruces al cuadrante del centro y a la periferia) y la frecuencia de estiramientos verticales (Figura 24 y 25).



Figura 24. Ratón en la prueba de campo abierto, EMEt.



Figura 25. Ratón en la prueba de campo abierto, EMMm.

#### 6.7.4 Potenciación del estado hipnótico de pentobarbital

Se formaron 6 grupos de 8 ratones cada uno para realizar esta prueba de la siguiente manera: (T1 extracto 100 mg/kg; T2 extracto 200 mg/kg; T3 extracto 400 mg/kg; T4 extracto 600 mg/kg; T5 control negativo, solo agua; T6 control positivo diazepam 2 mg/kg a cada grupo se le administró pentobarbital 50 mg/kg). Se registró la latencia (el tiempo que el animal tardó en perder el equilibrio) y el tiempo de narcosis inducida por pentobarbital (periodo en que tarda el animal en recuperar el reflejo de enderezamiento) (Figura 26).



Figura 26. Prueba del estado hipnótico de pentobarbital.

## **6.8 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el software SigmaPlot, se realizó un análisis de varianza de una vía (one way-ANOVA), seguida de un análisis de Tukey con un nivel de confianza del 95 %, valores inferiores a ( $p < 0.05$ ) se consideraron estadísticamente significativo.

## 7 Resultados

### 7.1 Análisis de cromatografía en capa fina (CCF)

Los extractos provenientes de *M. mexicana* tuvieron los siguientes rendimientos con las siguientes claves, (*n*-hexano EHMm: 0.925%; acetona EAMm: 3.753%; metanol EMMm: 9.736%); de los extractos obtenidos de *Ehretia tinifolia*, se registraron los rendimientos siguientes y se les colocó una clave, (*n*-hexano EHEt: 1.940%; acetona EAEt: 3.069%; metanol EMEt: 8.367%) (Figura 27, 28 y 29).

El análisis de cromatografía en capa fina (CCF) de los extractos de ambas plantas, reveló la presencia de compuestos de tipo terpenoide, flavonoide y cumarinas, las Figuras de la 30 a la 35 muestran el bandeo de compuestos.

Las Figuras 36 y 37 muestran el corrimiento cromatográfico de los extractos metanólicos de ambas plantas en fase normal y fase reversa, en ambas es posible observar compuestos del tipo flavonoide.



Figura 27. Destilación.



Figura 28. Rotavapor, destilación.



Figura 29. Maceración de extractos.

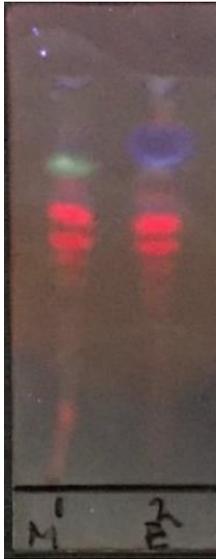


Figura 30. Placa CCF fase normal 1. EHMm; 2. EHEt 7:3 *n*-hexano/acetona, expuesta a luz UV de onda larga (365 nm)



Figura 31. Placa CCF fase normal 1. EAMm; 2. EAEt 7:3 *n*-hexano/acetona, expuesta a luz UV de onda larga (365 nm)



Figura 32. Placa CCF fase normal 1. EMMm; 2. EMEt 95:05 diclorometano/metanol, expuesta a luz UV de onda larga (365 nm)



Figura 33. Placa CCF fase normal 1. EHMm; 2. EHEt 7:3 *n*-hexano/acetona, revelada con reactivo Komarovsky



Figura 34. Placa CCF fase normal 1. EAMm; 2. EAEt 7:3 *n*-hexano/acetona, revelada con reactivo Komarovsky



Figura 35. Placa CCF fase normal 1. EMMm; 2. EMEt 95:05 diclorometano/metanol, revelada con reactivo NP-PEG



Figura 36. Placa CCF fase normal 1. *EMMm*; 2. *EMEt* 95:05 diclorometano /metanol, revelada con reactivo NP-PEG

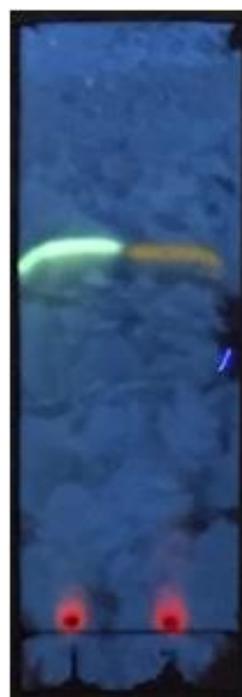


Figura 37. Placa CCF fase reversa 1. *EMEt*; 2. *EMMm* 60:40 acetonitrilo /agua, revelada con reactivo NP-PEG

La Figura 38 muestra una placa del fraccionamiento de *EMEt*, fase normal 70:30 n-hexano/acetona, La banda 1. *AcOEt* y 2. Acetona, expuesta a luz UV de onda larga (365 nm), en donde se observa manchas de color azul intenso que revelan compuestos del tipo cumarina. La Figura 39 muestra la misma placa de la figura 38 pero revelada con reactivo Komarovsky en donde se alcanzan a revelar compuestos de tipo terpenoide.



Figura 38.



Figura 39.

Los extractos metanólicos de ambas plantas presentaron un rendimiento alto en comparación con los otros extractos de polaridad baja y media y dado que se inició con el fraccionamiento de *EMEt*, se decidió iniciar la investigación farmacológica con este extracto.

## **7.2 Actividad antidepresiva de *EMEt***

En la Figura 40, se puede observar que la administración oral de 15 mg/kg del fármaco imipramina (T6), indujo una notable disminución en el tiempo de inmovilidad de los ratones durante la prueba. Por ende, fue indicativo de que la prueba funcionó bajo las condiciones empleadas. Dicho efecto fue significativamente diferente en comparación con el del grupo que sólo recibió el vehículo (T5). El efecto antidepresivo de *EMEt*, fue probado a 100 mg/kg-T1, 200 mg/kg-T2, 400 mg/kg-T3 y 600 mg/kg-T4, observándose que, dichos tratamientos provocaron una disminución de inmovilidad teniendo una diferencia significativa con el control negativo. Por otro lado, el grupo T3 fue el que presentó menor efecto.

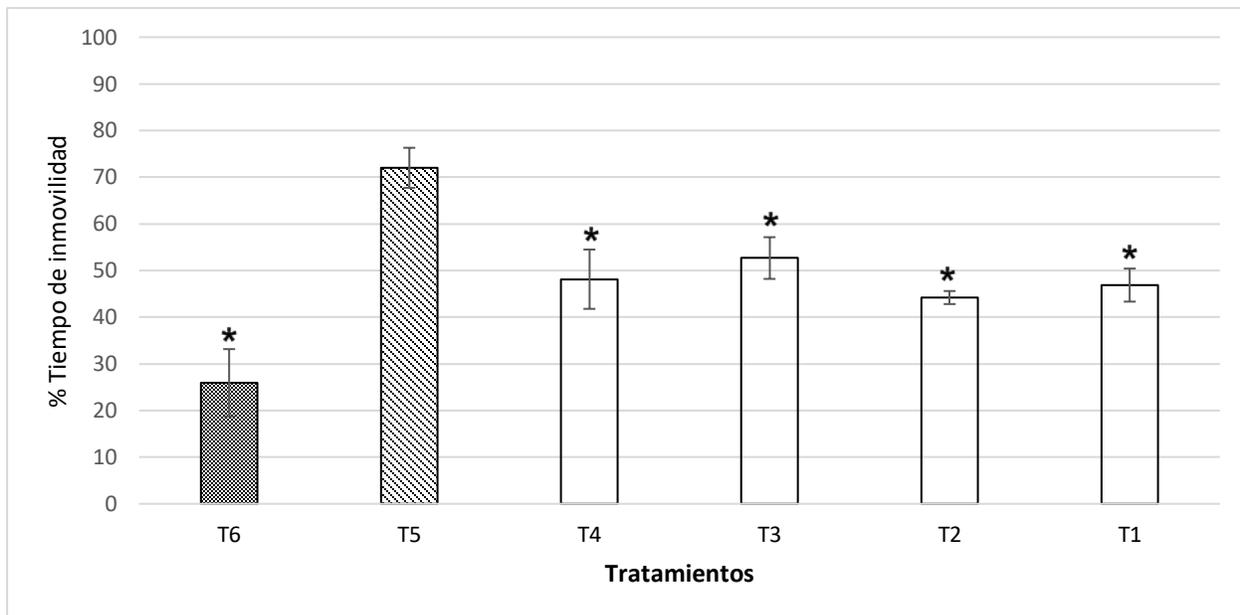


Figura 40. Porcentaje de tiempo de inmovilidad de ratones CD-1 en la prueba de NF. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 imipramina (15 mg/kg, vo), de: EMEt. \*=  $p < 0.05$ .

### 7.3 Actividad ansiolítica de EMEt (LEC)

En la Figura 41, se puede observar que la administración intraperitoneal de 2 mg/kg del fármaco diazepam (T6 control positivo), indujo un aumento en el tiempo de permanencia en (TA) y una disminución en la permanencia en (TC). Por ende, fue indicativo de que la prueba funcionó bajo las condiciones empleadas. Dicho efecto fue significativamente diferente en comparación con el del grupo que sólo recibió el vehículo (T5). El efecto ansiolítico de EMEt, fue probado a 100 mg/kg-T1, 200 mg/kg-T2, 400 mg/kg-T3 y 600 mg/kg-T4, observándose que, dichos tratamientos provocaron un aumento en la permanencia en TA, teniendo una dosis respuesta de menor concentración mejor efecto. Cabe mencionar que el control positivo tuvo diferencia significativa con todos los tratamientos que contenían EMEt. El tratamiento 1, fue el único que mostró diferencia significativa contra el tratamiento 5.

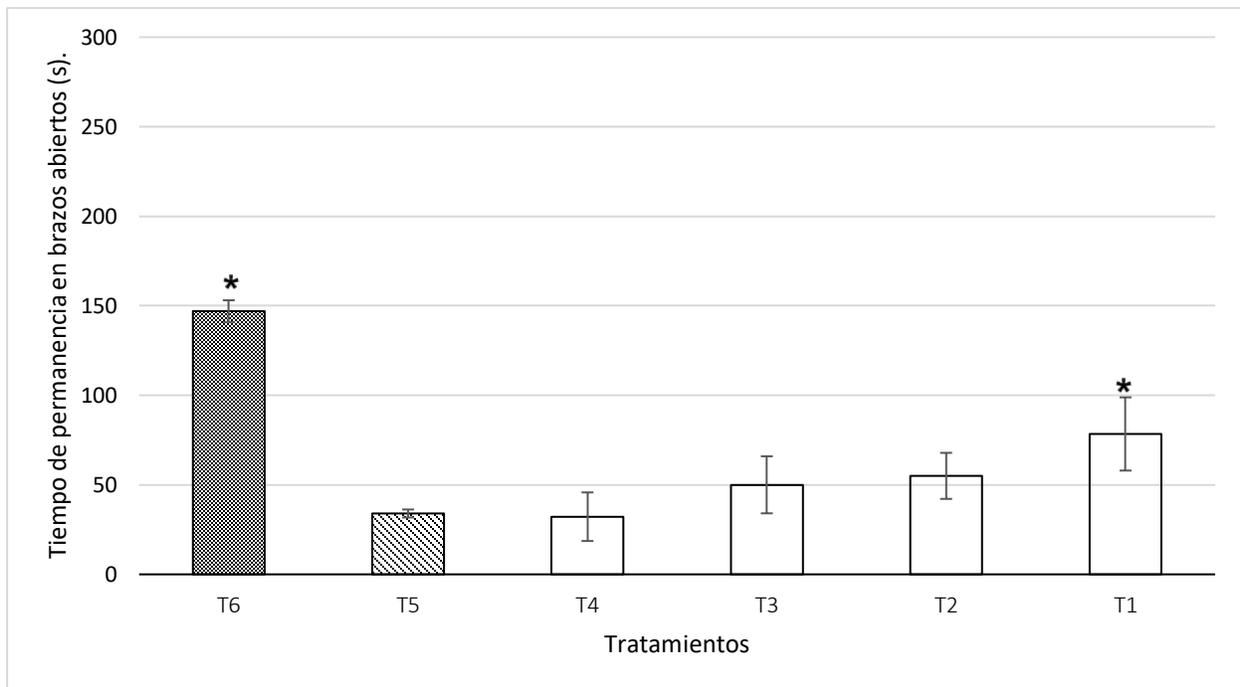


Figura 41. Tiempo de permanencia en los brazos abiertos de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,), de: *EMEt*. \* =  $p < 0.05$ .

En la Figura 42, se puede observar que el fármaco diazepam (T6 control positivo), indujo una disminución en el porcentaje de tiempo de permanencia en brazos cerrados. Por tanto, podemos decir que la prueba funcionó bajo las condiciones empleadas. Dicho efecto fue significativamente diferente en comparación con el del grupo que sólo recibió el vehículo (T5). Los Tratamientos T1, T2, T3 y T4, mostraron una disminución en la permanencia en TC, teniendo como mejor efecto T4 y T3. Cabe mencionar que todos los tratamientos que contenían el extracto *EMEt*, fueron significativamente diferentes en comparación con T5. En la Figura 43 se observa el porcentaje de tiempo en el centro, los tratamientos T1, T2, T3 y T4, fueron significativamente diferentes con el T5, observando que T4 resultó con un mejor efecto en este parámetro.

Durante la prueba de laberinto de cruz elevado (LEC), se tomaron en cuenta otros parámetros para evaluar como entradas a brazos abiertos (Figura 44) y cerrados (Figura 45), asomadas (Figura 46), estiramientos verticales (Figura 47) y bolos fecales (Figura 48).

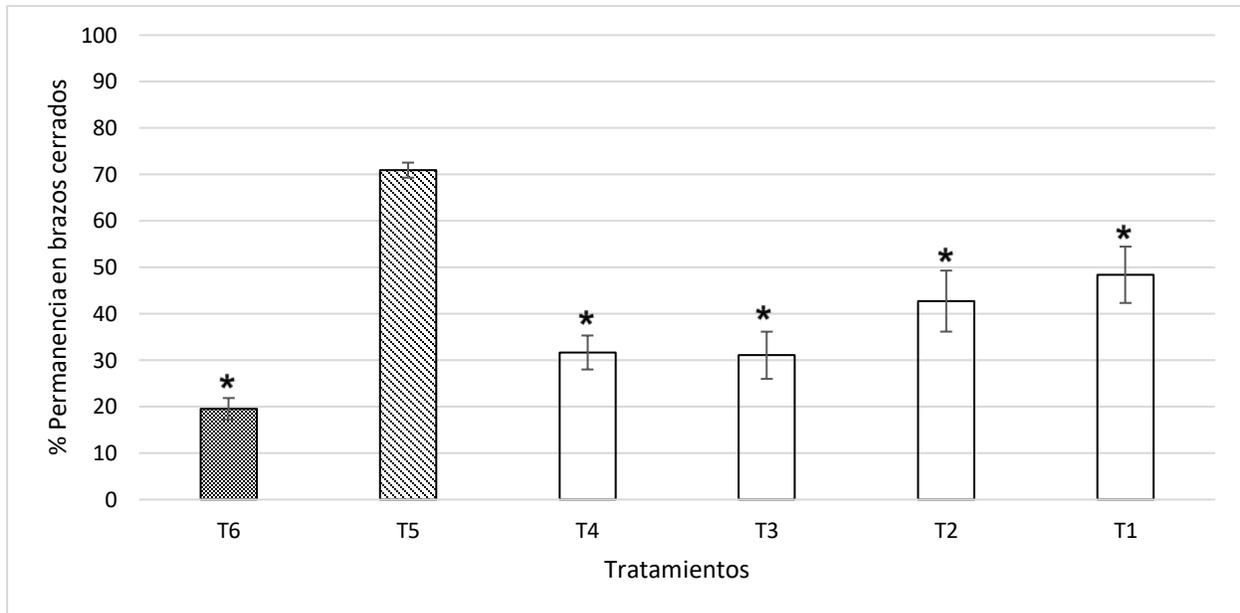


Figura 42. Porcentaje de permanencia en los brazos cerrados de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,), de: EMEt. \* =  $p < 0.05$ .

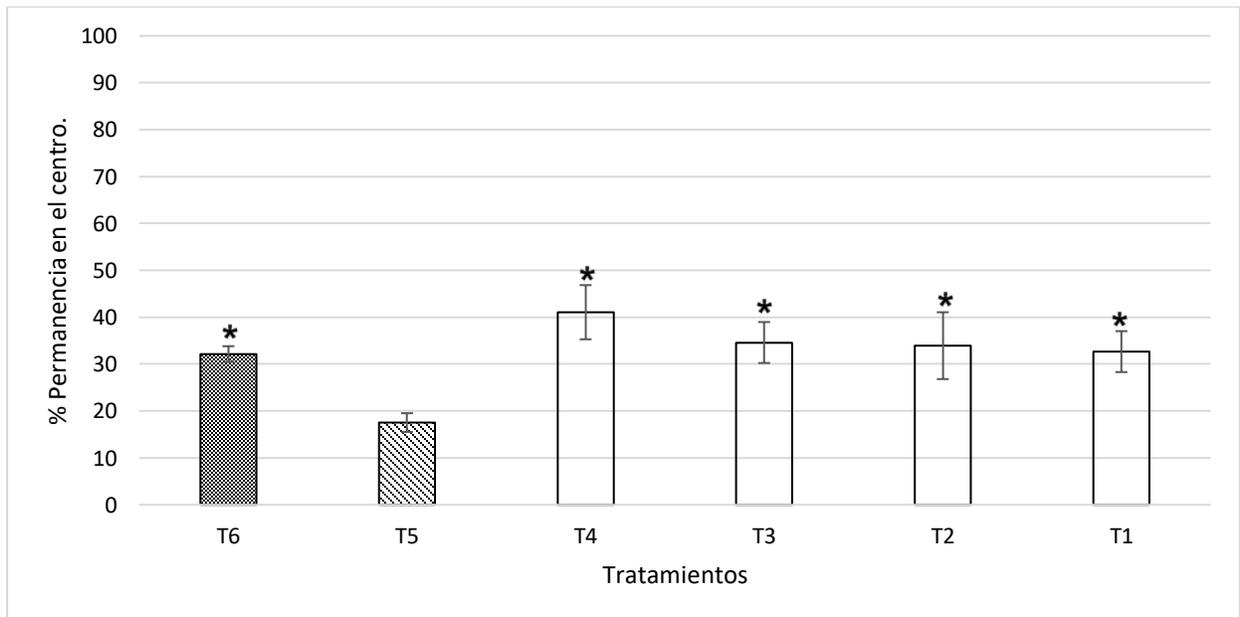


Figura 43. Porcentaje de permanencia en el centro de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,), de: EMEt. \* =  $p < 0.05$ .

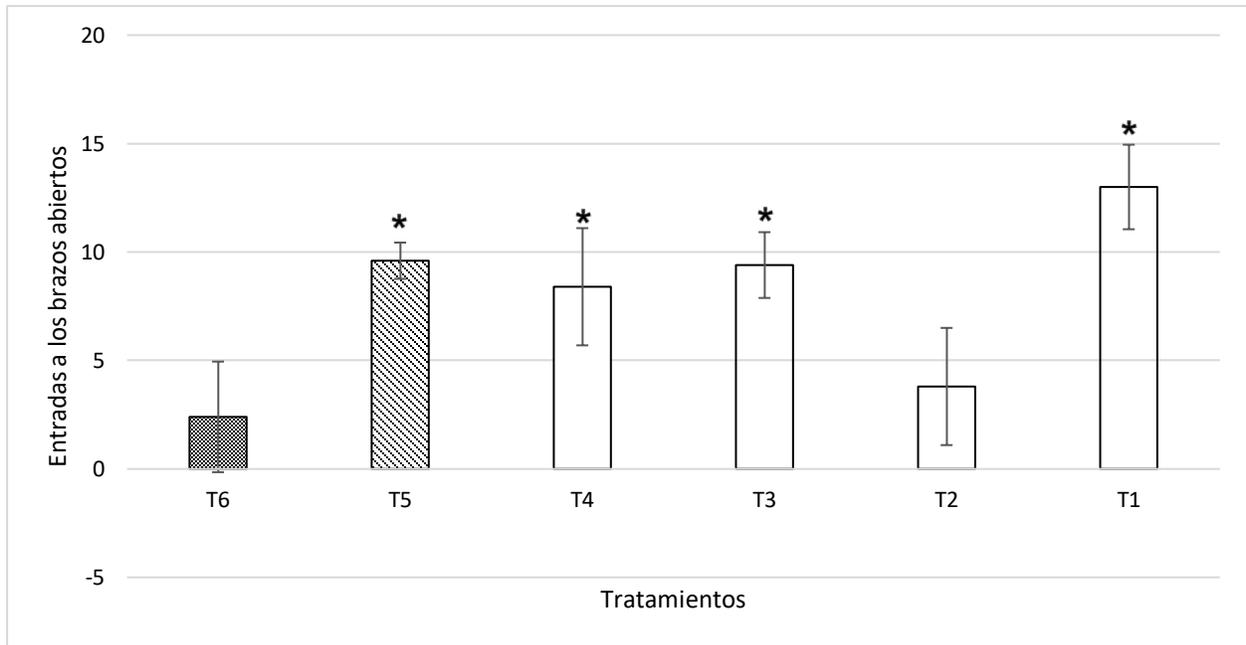


Figura 44. Entradas a los brazos abiertos de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg), de: EMEt. \*=  $p < 0.05$ .

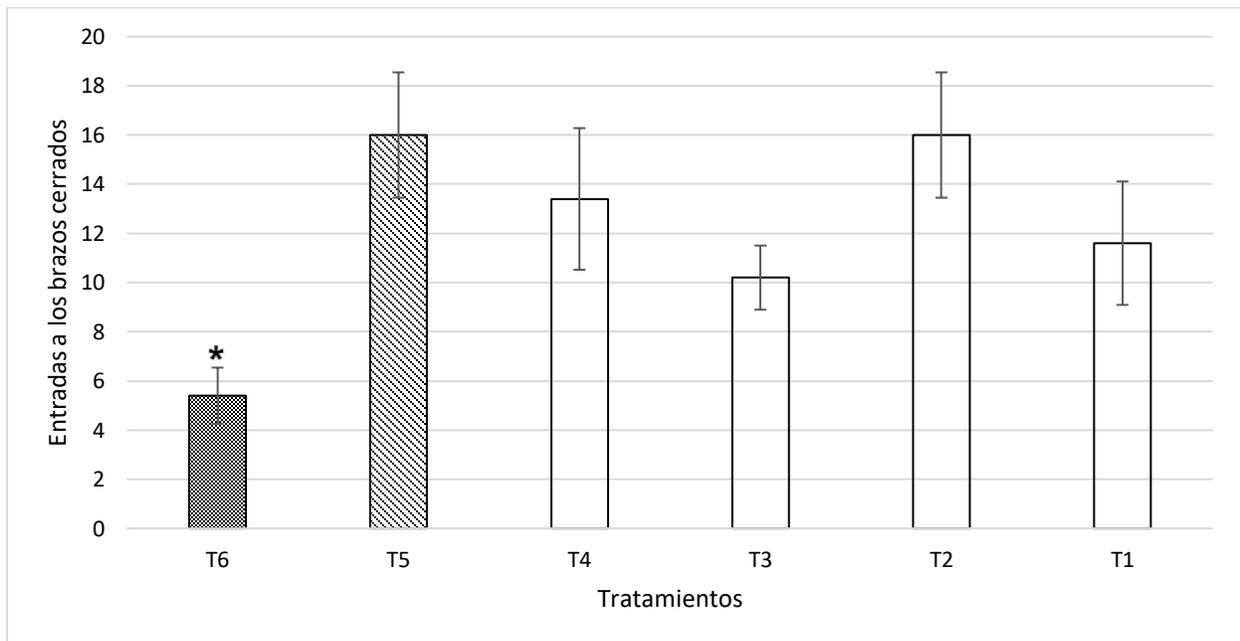


Figura 45. Entradas a los brazos cerrados de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg), de: EMEt. \*=  $p < 0.05$ .

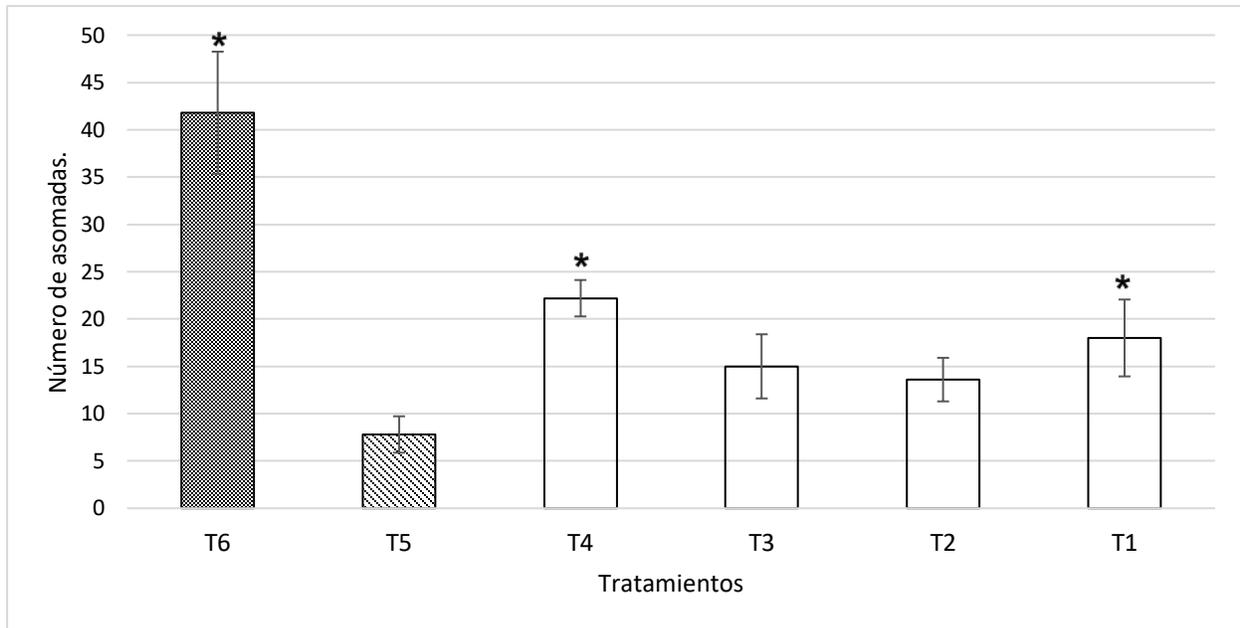


Figura 46. Número de asomadas de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,.) de: EMEt. \*= p<0.05.

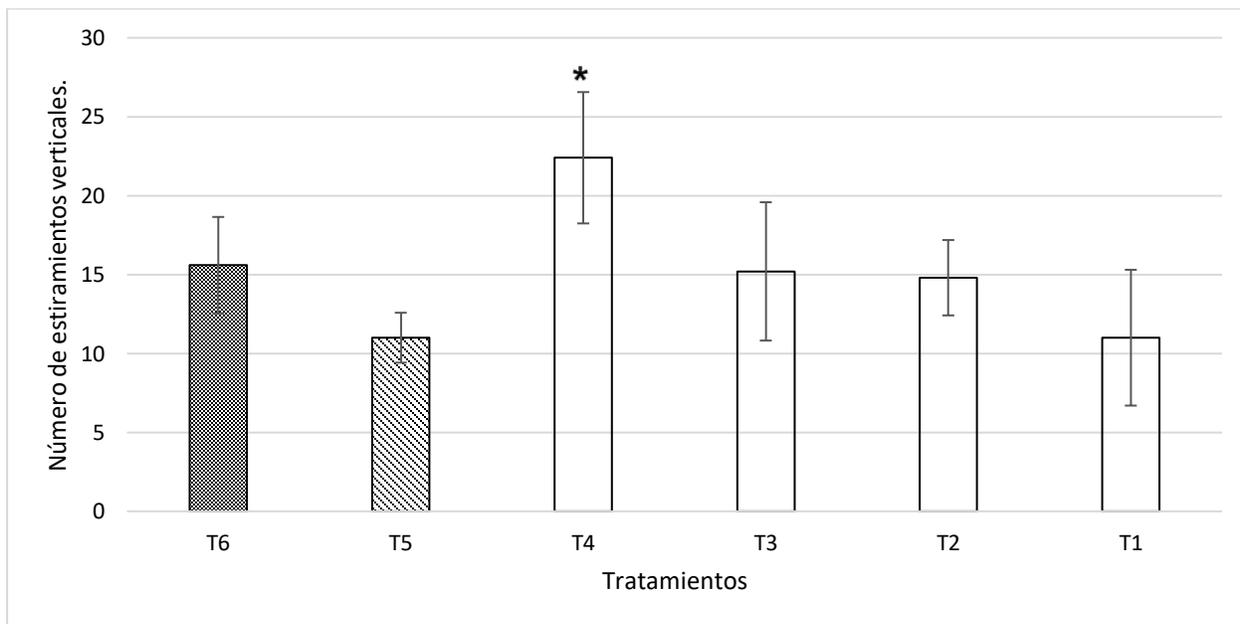


Figura 47. Número de estiramientos verticales de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,.) de: EMEt. \*= p<0.05.

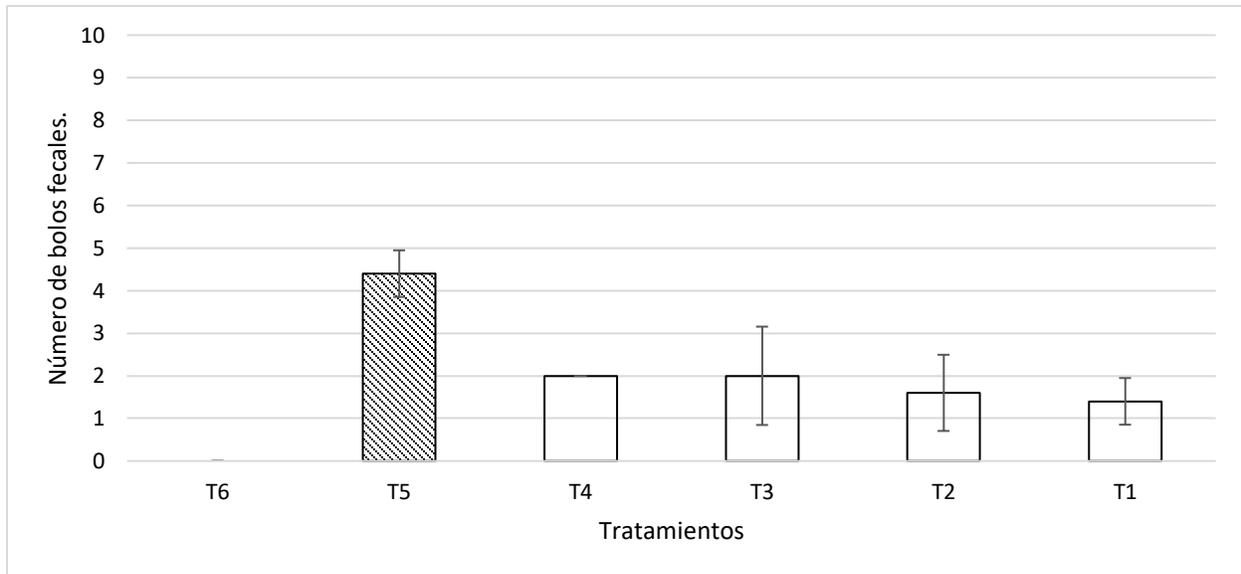


Figura 48. Número de bolos fecales de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg.), de: EMEt. \*=  $p < 0.05$ .

#### 7.4 Actividad ansiolítica de EMEt (CA)

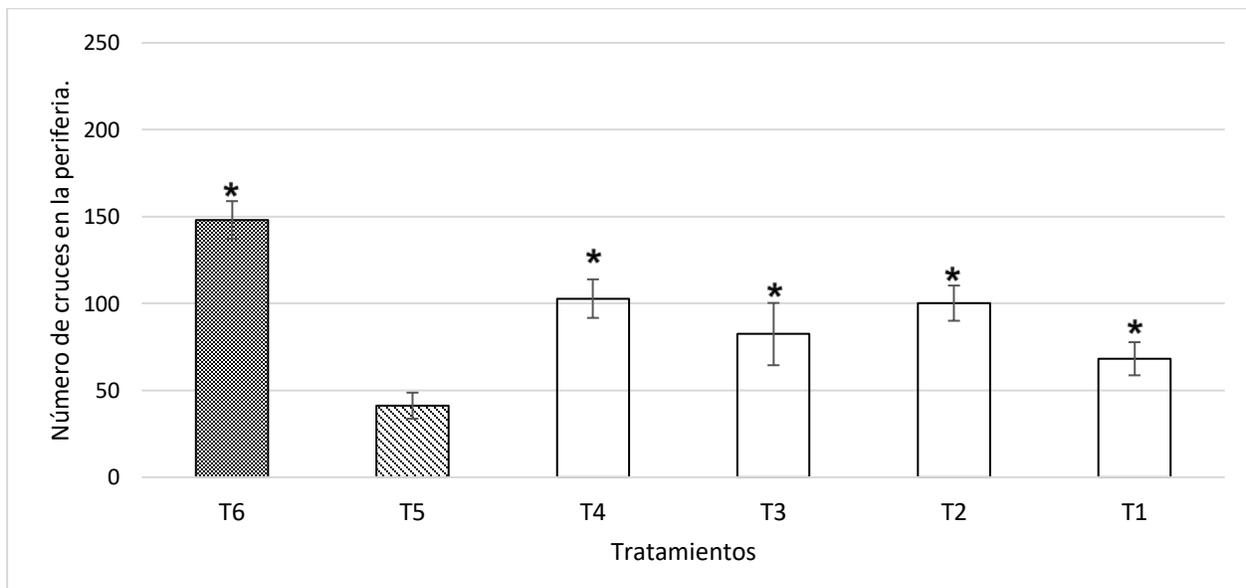


Figura 49. Número de cruces en la periferia de ratones CD-1 en la prueba de CA. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg.), de: EMEt. \*=  $p < 0.05$ .

En la Figura 49, se puede observar que la administración intraperitoneal de 2 mg/kg del fármaco diazepam (T6 control positivo), indujo un aumento en los cruces por la periferia. Por ende, fue indicativo de que la prueba funcionó bajo las condiciones empleadas. Dicho efecto fue significativamente diferente con los siguientes grupos T1, T2, T3, T4 y T5. El efecto ansiolítico de EMEt, fue probado a 100 mg/kg-T1, 200 mg/kg-T2, 400 mg/kg-T3 y 600 mg/kg-T4, observándose que, dichos tratamientos fueron significativamente diferentes con T5. Teniendo a T2 como la mejor respuesta.

En la Figura 50, se observa el número de cruces en el centro. El tratamiento T6 tuvo una diferencia significativa con el T5. Los tratamientos T1, T2, T3 y T4 no tuvieron una diferencia significativa con T5.

También se evaluaron otros parámetros para medir la actividad ansiolítica como estiramientos verticales (Figura 51), acicalamiento (Figura 52) y bolos fecales (Figura 53).

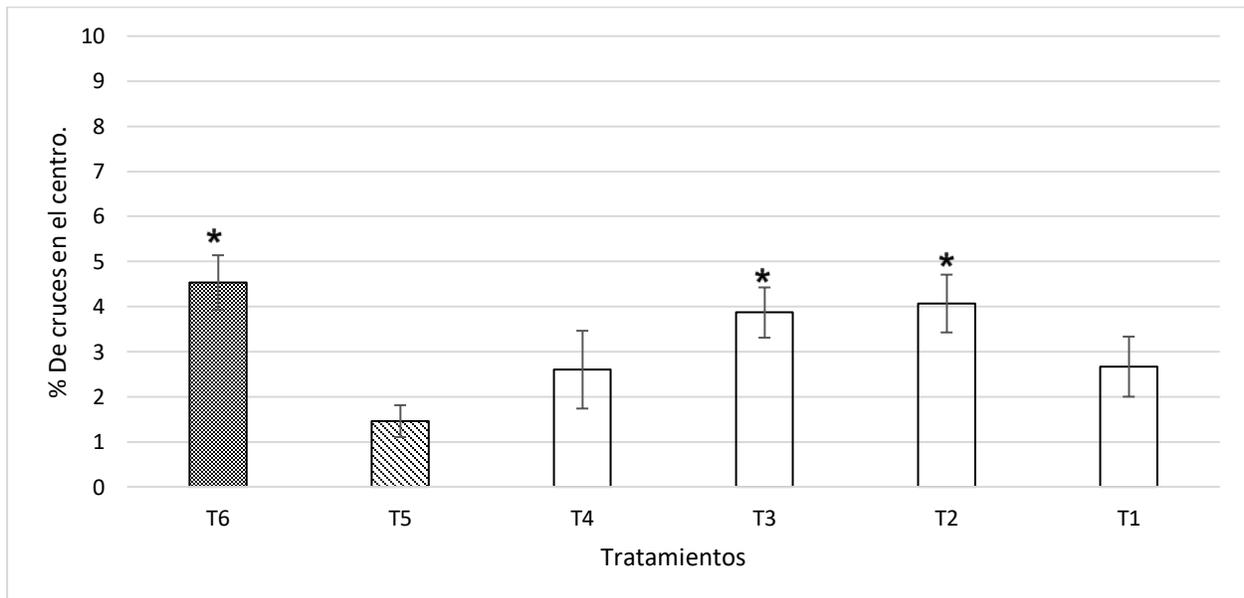


Figura 50. Porcentaje de cruces en el centro de ratones CD-1 en la prueba de CA. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg.), de: EMEt. \* =  $p < 0.05$ .

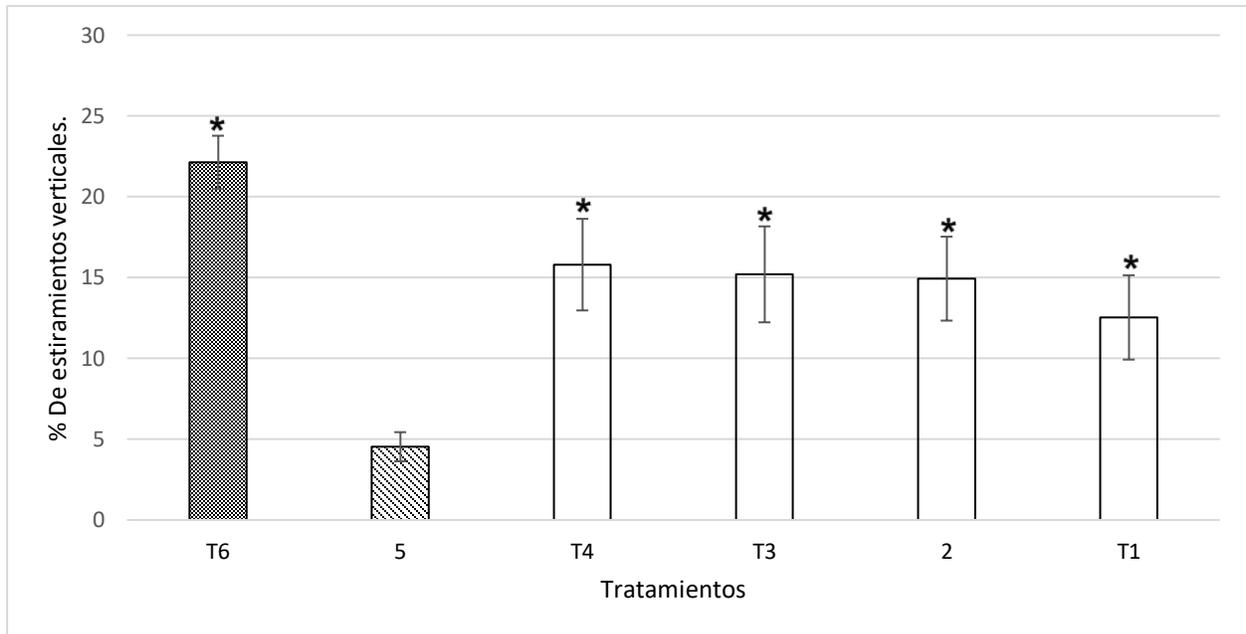


Figura 51. Porcentaje de estiramientos verticales de ratones CD-1 en la prueba de CA. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,.) de: EMEt. \*= p<0.05.

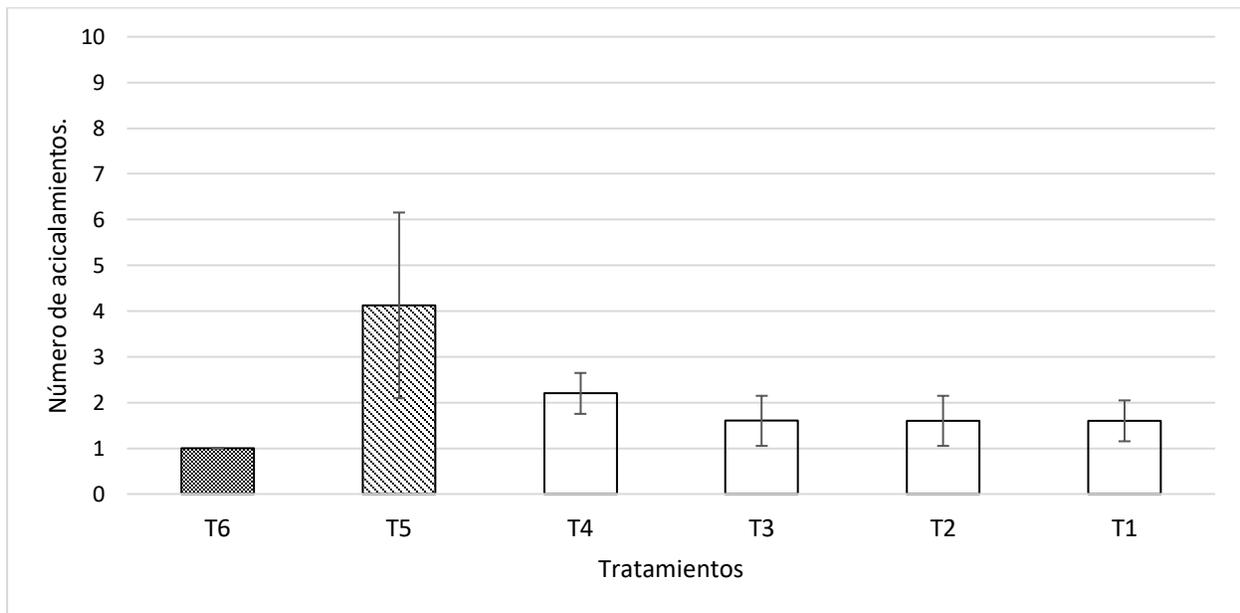


Figura 52. Número de acicalamientos de ratones CD-1 en la prueba de CA. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,.) de: EMEt. \*= p<0.05.

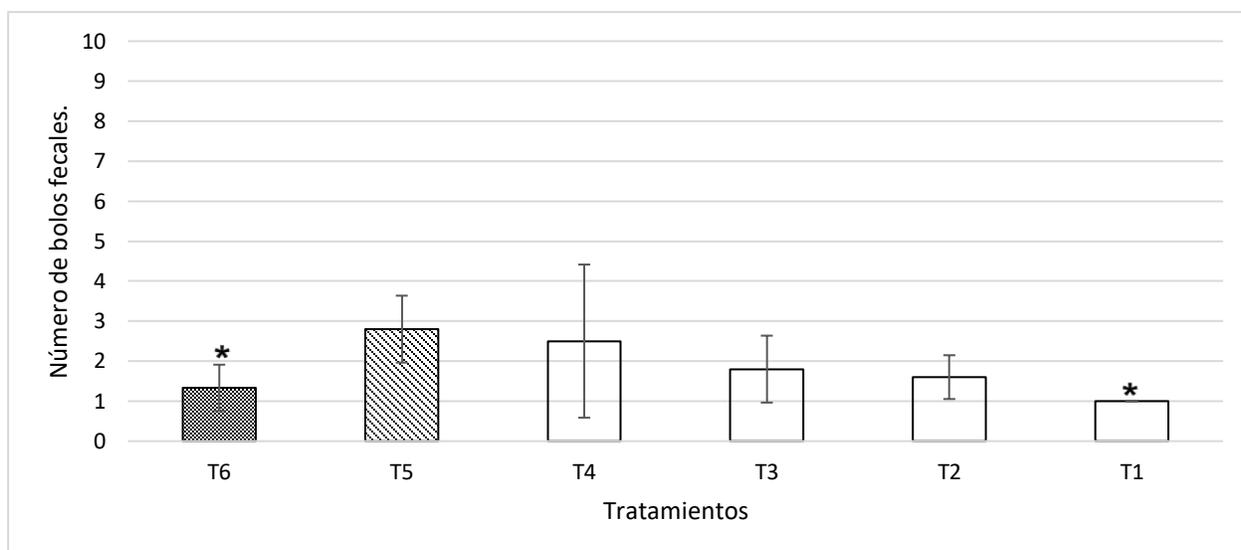


Figura 53. Número de bolos fecales de ratones CD-1 en la prueba de CA. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg.), de: *EMEt*. \*=  $p < 0.05$ .

### 7.5 Actividad sedante del *EMEt* (pentobarbital)

En la Tabla 3, se puede observar que la administración oral de 2 mg/kg del fármaco diazepam (T6), indujo una notable rapidez en el tiempo que entraba en latencia y narcosis durante la prueba. Por ende, fue indicativo de que la prueba funcionó bajo las condiciones empleadas. Dicho efecto fue significativamente diferente en comparación con el del grupo que sólo recibió el vehículo (T5). El efecto sedante de *EMEt*, fue probado a 100 mg/kg-T1, 200 mg/kg-T2, 400 mg/kg-T3 y 600 mg/kg-T4, pero no hubo una diferencia significativa.

Tabla 3. Extracto metanólico de *Ehretia tinifolia* a dosis de 100, 200, 400 y 600 mg/kg: T6=DZP; T5= Vehículo (agua); Lat=Latencia; Nar=Duración de la hipnosis; DE=Desviación estándar.

Tratamientos	Lat ( $\pm$ DE)	Nar ( $\pm$ DE)
T6	260.8 $\pm$ 36.622 *	1521.6 $\pm$ 58.161 *
T5	630 $\pm$ 132.287	420 $\pm$ 170.587
T1 (100mg/kg)	185 $\pm$ 261.629	715 $\pm$ 1011.1627
T2 (200mg/kg)	413.75 $\pm$ 116.431	564 $\pm$ 676.772
T3 (400mg/kg)	245 $\pm$ 346.482	655 $\pm$ 926.309
T4 (600mg/kg)	194 $\pm$ 274.357	311 $\pm$ 439.820

## 7.6 Actividad antidepresiva de EMMm (NF)

En la Figura 54, se puede observar que la administración oral de 15 mg/kg del fármaco imipramina (T6), indujo una notable disminución en el tiempo de inmovilidad de los ratones durante la prueba. Por ende, fue indicativo de que la prueba funcionó bajo las condiciones empleadas. Dicho efecto fue significativamente diferente en comparación con el del grupo que sólo recibió el vehículo (T5). El efecto antidepresivo de EMMm, fue probado a 100 mg/kg-T1, 200 mg/kg-T2, 400 mg/kg-T3 y 600 mg/kg-T4, observándose que, dichos tratamientos no provocaron una disminución de inmovilidad, por tanto podemos decir que no tienen una diferencia significativa con el control negativo.

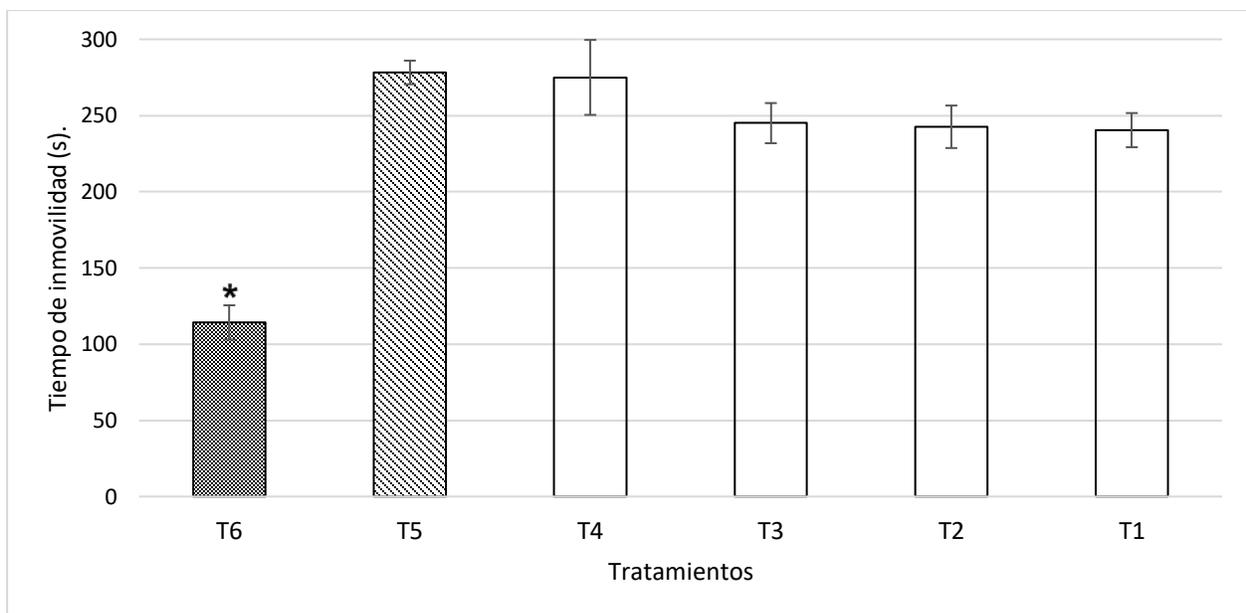


Figura 54. Tiempo de inmovilidad de ratones CD-1 en la prueba de NF. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 imipramina (15 mg/kg), de: EMMm. \*=  $p < 0.05$ .

## 7.7 Actividad ansiolítica de EMMm (LEC)

En la Figura 55, se puede observar que la administración intraperitoneal de 2 mg/Kg del fármaco diazepam (T6 control positivo), indujo un aumento en el tiempo de permanencia en brazos abiertos (TA). Por ende, fue indicativo de que la prueba funcionó bajo las condiciones empleadas, dicho efecto fue significativamente diferente en comparación con los siguientes grupos T1, T2, T3, T4 y T5. El efecto ansiolítico de EMMm, fue probado a 100 mg/kg-T1, 200 mg/kg-T2, 400 mg/kg-T3 y 600 mg/kg-T4, observándose que, dichos tratamientos provocaron un aumento en la permanencia en TA, teniendo una diferencia significativa con el grupo que sólo recibió el vehículo (T5).

En la Figura 56, podemos observar el tiempo de permanencia en brazos cerrados, el efecto ansiolítico de EMMm, fue probado a 100 mg/kg-T1, 200 mg/kg-T2, 400 mg/kg-T3 y 600mg/kg-T4, observándose que dichos tratamientos provocaron una disminución en la permanencia en TC, teniendo una diferencia significativa con el grupo que sólo recibió el vehículo (T5).

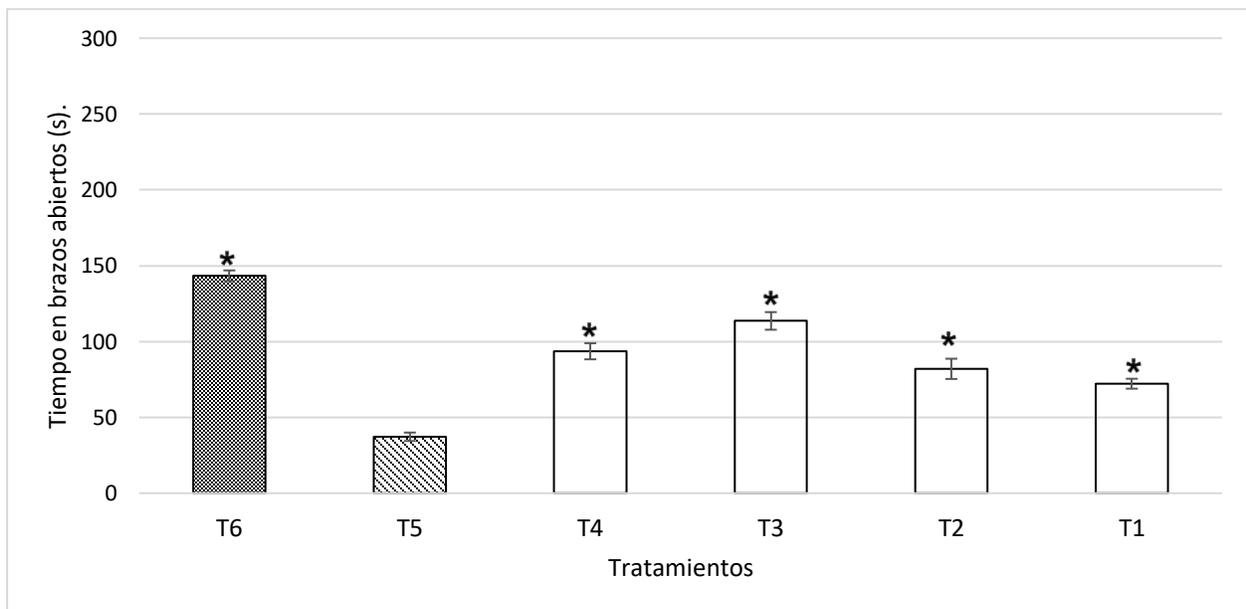


Figura 55. Tiempo en brazos abiertos de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg), de: EMMm. \*=  $p < 0.05$ .

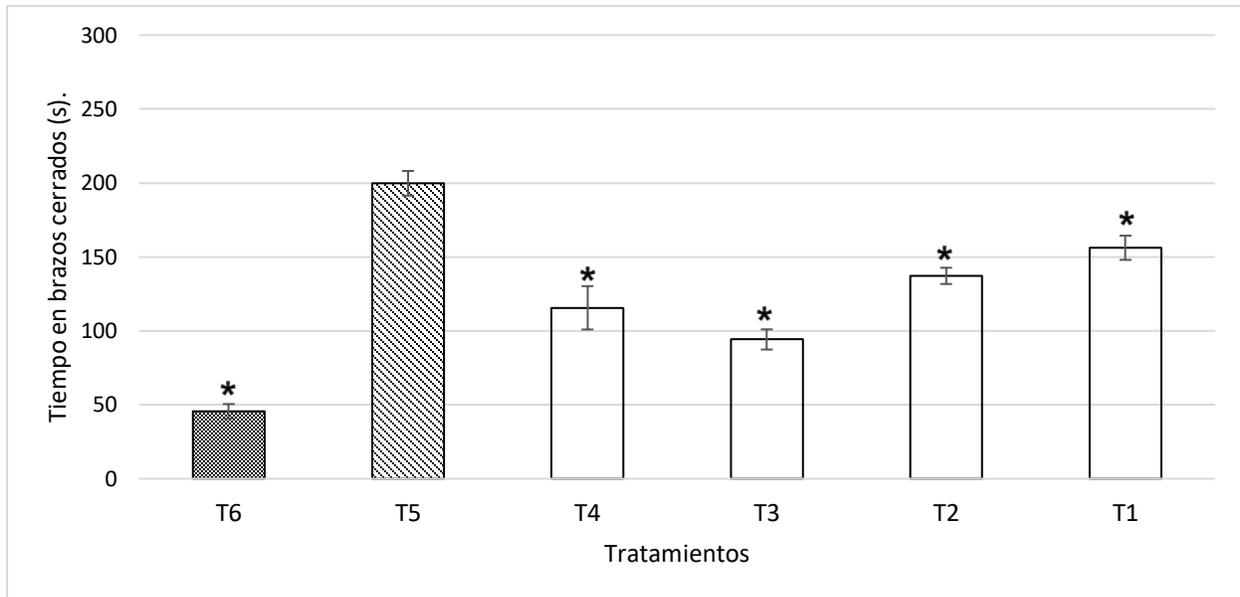


Figura 56. Tiempo en brazos cerrados en segundos de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,.) de: *EMEMm*. \* =  $p < 0.05$ .

En la Figura 57, se evaluó el tiempo de permanencia en el centro de LEC, teniendo como resultado que el tratamiento T6, fue significativamente diferente con el grupo que sólo recibió el vehículo T5, pero también presentó una diferencia significativa con los siguientes grupos T1, T2, T3 y T4. El efecto ansiolítico de *EMMm* se presentó en T3 y T4 teniendo una diferencia significativa con T5.

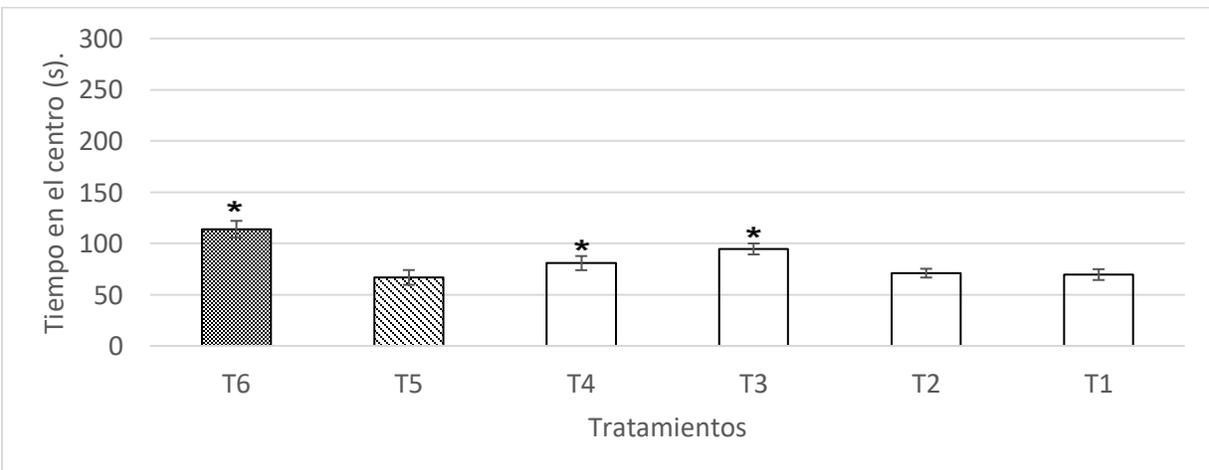


Figura 57. Tiempo en el centro de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,.) de: *EMEMm*. \* =  $p < 0.05$ .

Durante esta prueba (LEC) también se tomaron en cuenta otros parámetros para indicar si hubo una disminución de la ansiedad como entradas a brazos abiertos (Figura 58) y cerrados (Figura 59), asomadas (Figura 60), estiramientos verticales (Figura 61) y bolos fecales (Figura 62).

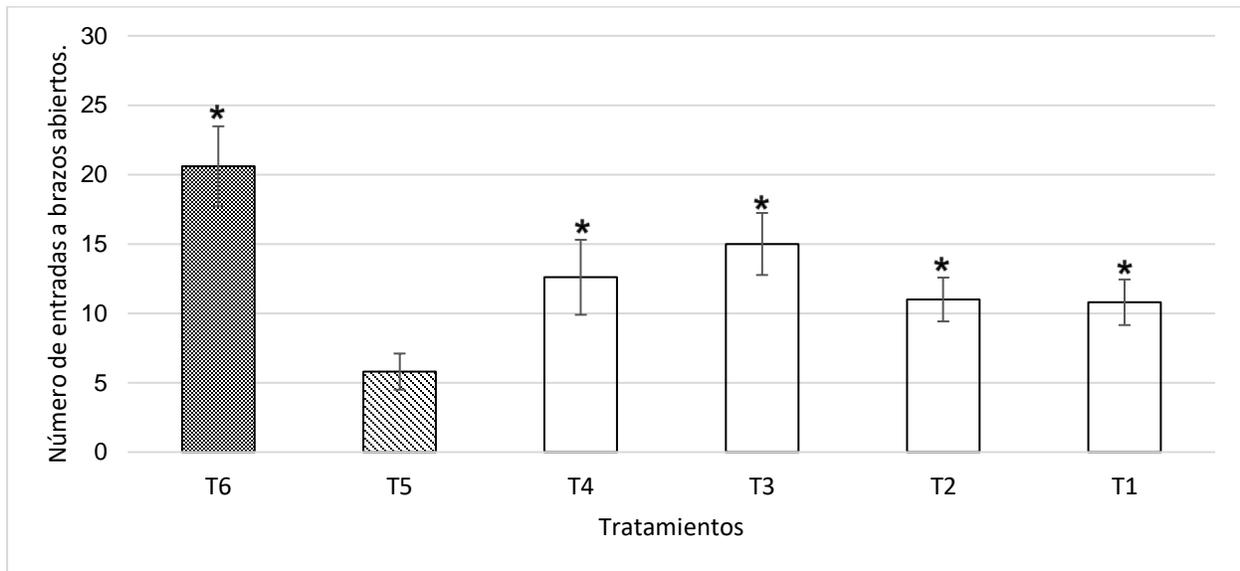


Figura 58. Número de entradas a brazos abiertos en ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,.) de: EMEMm. \*=  $p < 0.05$ .

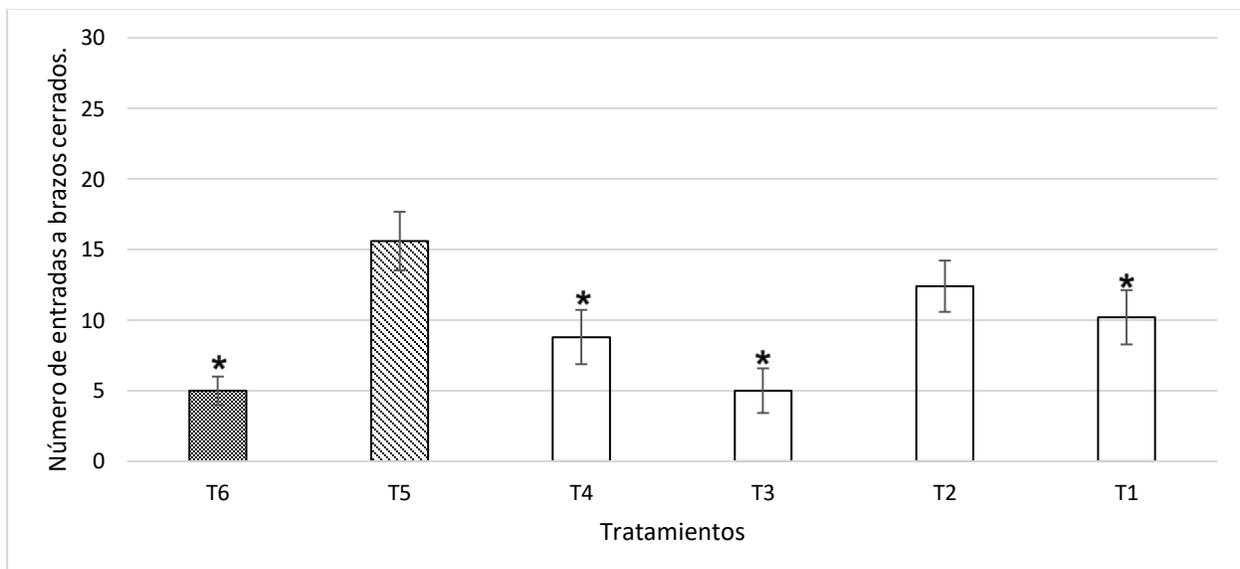


Figura 59. Número de entradas a brazos cerrados de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración

oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,.) de: EMEMm. \*=  $p < 0.05$ .

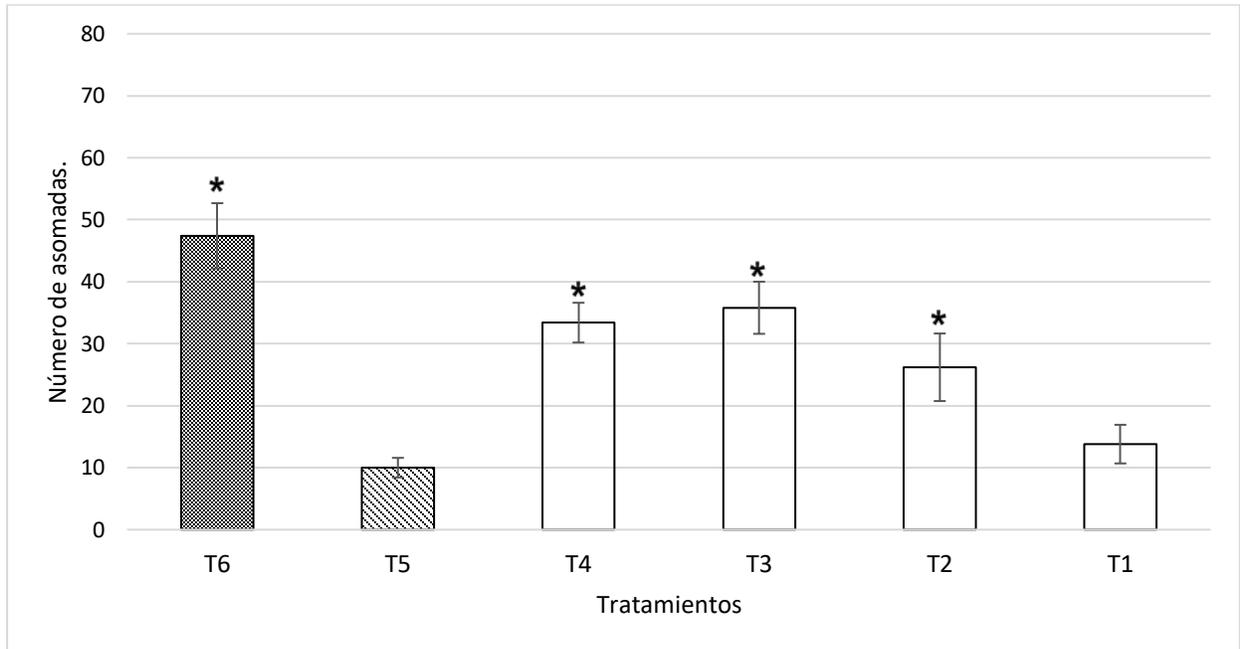


Figura 60. Número de asomadas de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,.) de: EMEMm. \*=  $p < 0.05$ .

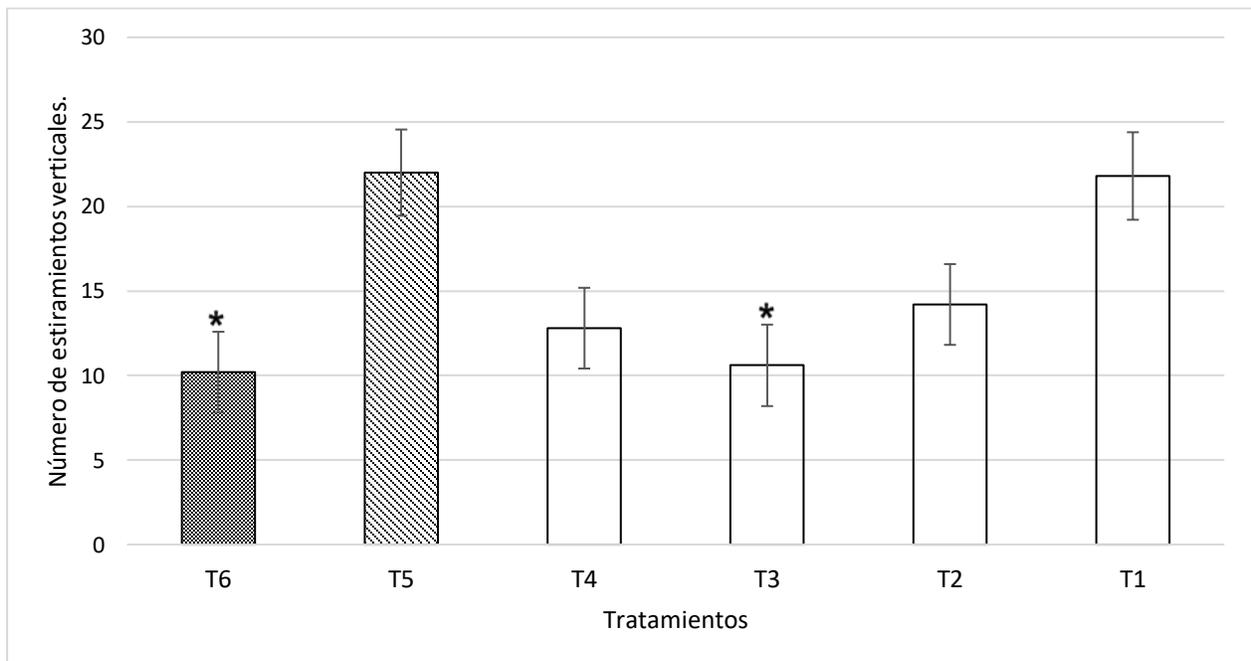


Figura 61. Número de estiramientos verticales de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral

de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg.), de: *EMEMm*. \* =  $p < 0.05$ .

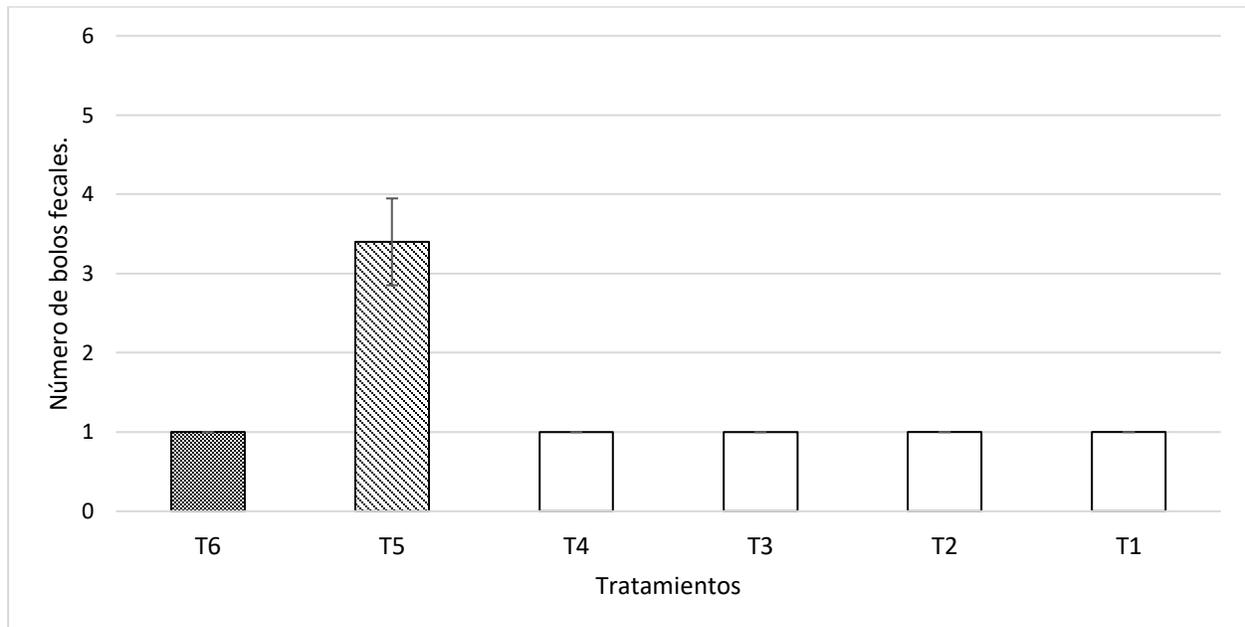


Figura 62. Número de bolos fecales de ratones CD-1 en la prueba de LEC. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg.), de: *EMEMm*. \* =  $p < 0.05$ .

### 7.8 **Actividad ansiolítica de *EMMm* (CA).**

En la prueba de campo abierto, el grupo control positivo (T6) se le administró 2mg/kg del fármaco diazepam obteniendo una diferencia significativa con el grupo control negativo (T5) que sólo recibió el vehículo. Por ende, podemos decir la prueba funcionó con las medidas empleadas. El tratamiento T6 tuvo una diferencia significativa con los siguientes tratamientos T1, T2, T3 y T5. El efecto ansiolítico de *EMMm*, fue probado a 100 mg/kg-T1, 200 mg/kg-T2, 400 mg/kg-T3 y 600 mg/kg-T4, observándose que, dichos tratamientos provocaron un aumento en los cruces de periferia, teniendo una diferencia significativa con el grupo que sólo recibió el vehículo (T5) (Figura 63). En la Figura 64, el tratamiento T6 tuvo una diferencia significativa con los siguientes tratamientos T1, T2, T3, T4 y T5. El efecto ansiolítico de *EMMm*, fue probado a 100 mg/kg-T1, 200 mg/kg-T2, 400 mg/kg-T3 y 600 mg/kg-T4, observándose que, dichos tratamientos provocaron un aumento en los cruces del centro, teniendo una diferencia significativa con el grupo que sólo recibió el vehículo (T5).

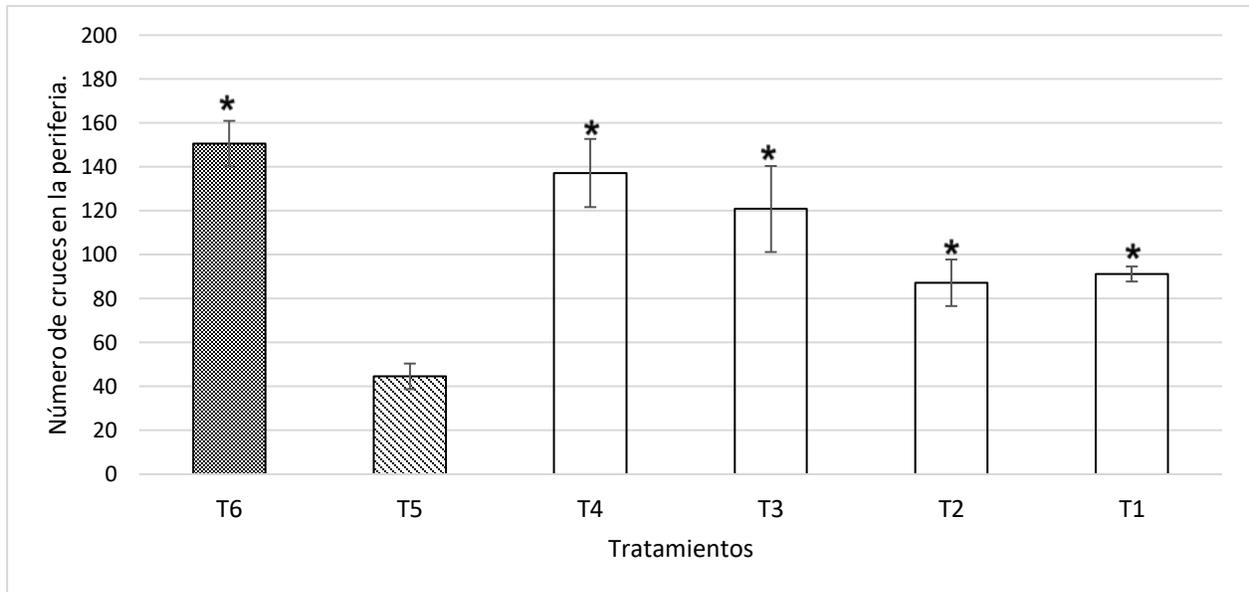


Figura 63. Número de cruces en la periferia de ratones CD-1 en la prueba de CA. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg.), de: EMEMm. \*=  $p < 0.05$ .

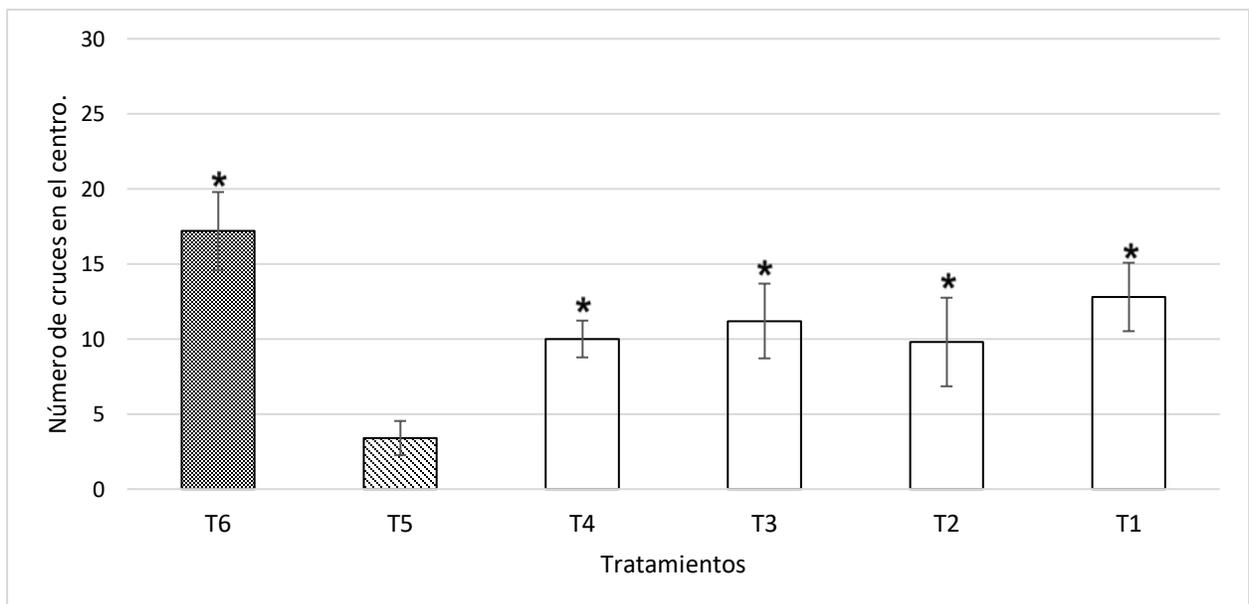


Figura 64. Número de cruces en el centro de ratones CD-1 en la prueba de CA. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg.), de: EMEMm. \*=  $p < 0.05$ .

Dentro de la prueba de campo abierto también se evaluaron otros parámetros para analizar si existe una actividad ansiolítica, como lo son estiramientos verticales (Figura 65) y bolos fecales (Figura 66).

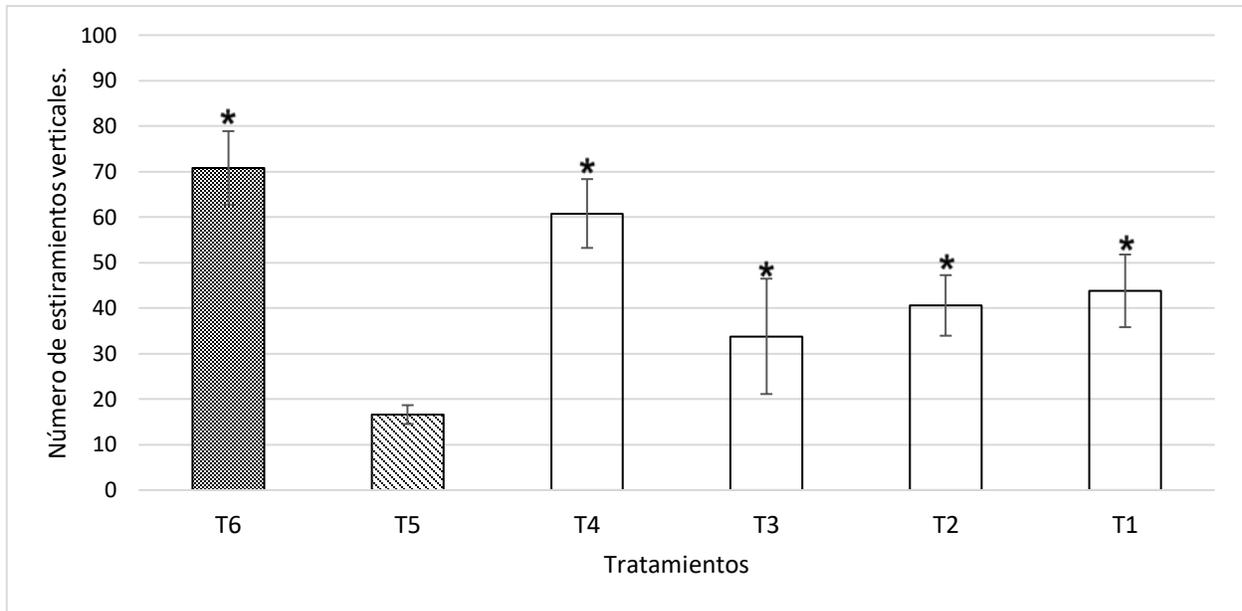


Figura 65. Número de estiramientos verticales de ratones CD-1 en la prueba de CA. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg.), de: EMEMm. \*=  $p < 0.05$ .

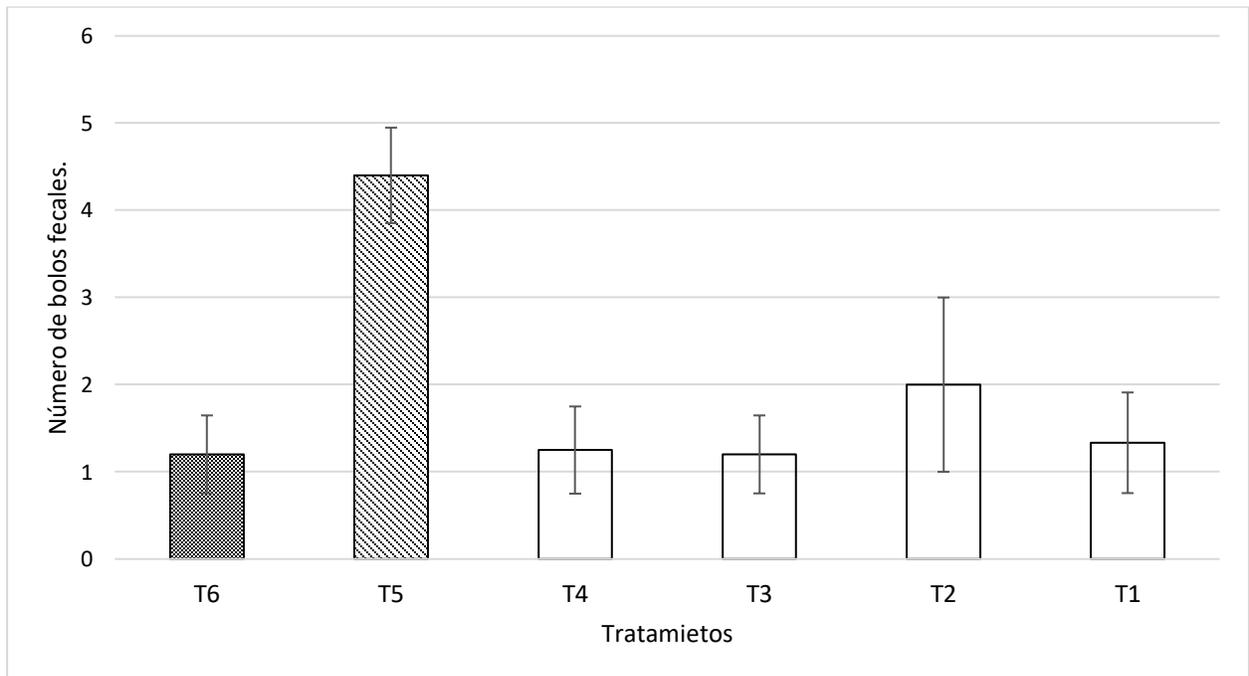


Figura 66. Número de bolos fecales de ratones CD-1 en la prueba de CA. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg.), de: EMEMm. \*=  $p < 0.05$ .

### 7.9 Actividad sedante del EMMm (pentobarbital)

En la Figura 67, se puede observar el porcentaje de tiempo de latencia de cada grupo. El tratamiento T6 que recibió 2 mg/kg del fármaco diazepam tuvo una diferencia significativa con el grupo T5 que sólo recibió el vehículo. Por ende, podemos decir que el modelo funcionó con las medidas empleadas. El efecto sedante de EMMm, fue probado a 100 mg/kg-T1, 200 mg/kg-T2, 400 mg/kg-T3 y 600 mg/kg-T4, observándose que, T1, T2, T3 y T4 provocaron una disminución de tiempo para entrar en latencia, teniendo una diferencia significativa con T5.

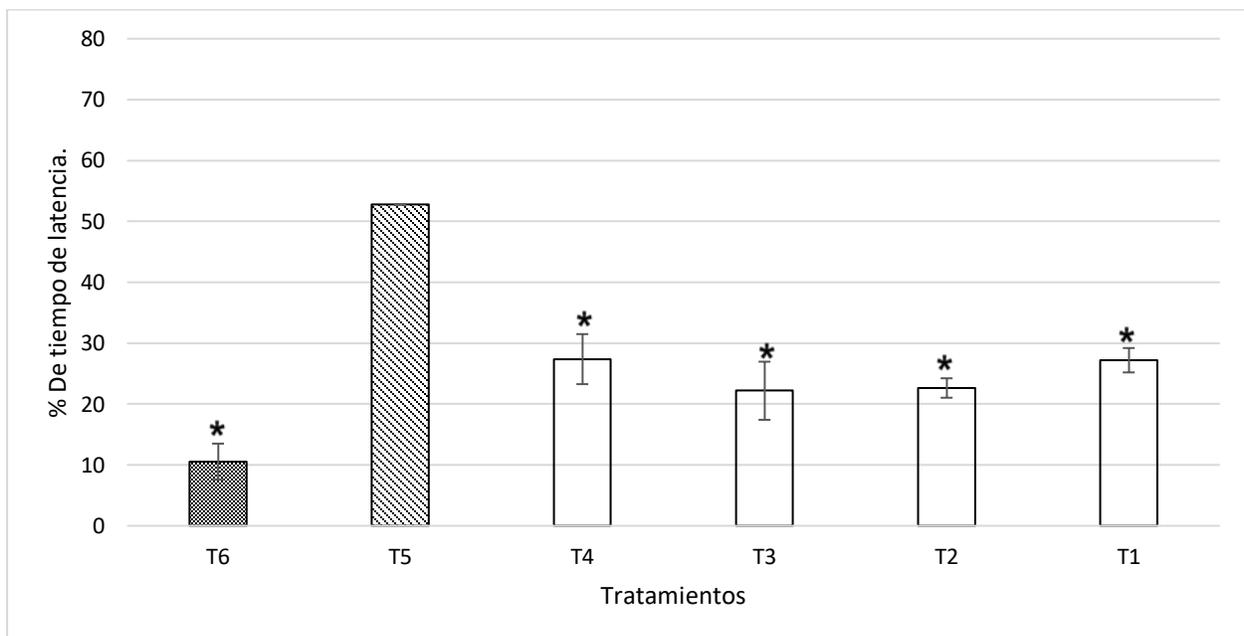


Figura 67. Porcentaje de tiempo de latencia de ratones CD-1 en la prueba de pentobarbital. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,), de: EMMm. \*=  $p < 0.05$ .

En la Figura 68, podemos observar el porcentaje de tiempo que tardó en entrar a narcosis. T6 tuvo una diferencia significativa en comparación con T5 que sólo recibió el vehículo. T1, T2, T3 y T4, tuvieron una diferencia significativa con T5.

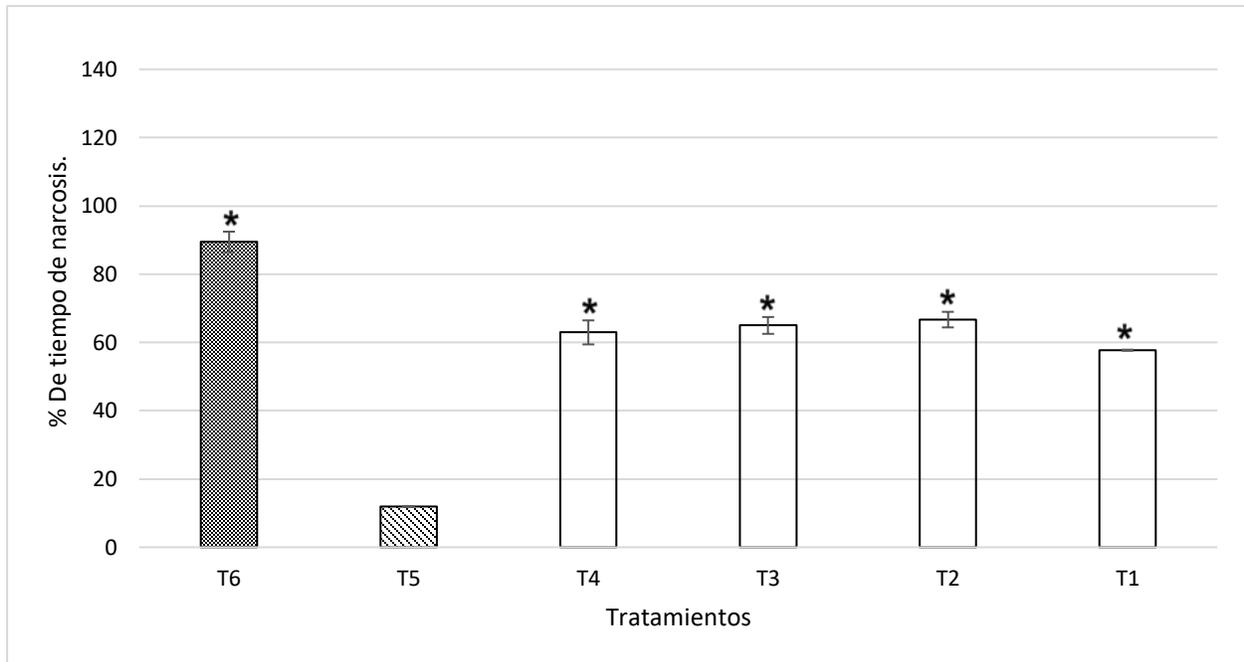


Figura 68. Porcentaje de tiempo de narcosis de ratones CD-1 en la prueba de pentobarbital. Administración oral de T1 (100 mg/kg), T2 (200 mg/kg), T3 (400 mg/kg), T4 (600 mg/kg), T5 (Vehículo) y T6 diazepam (2 mg/kg,), de: EMEMm. \*=  $p < 0.05$ .

## 8 Discusión

Las especies *Malpighia mexicana* “nanche rojo” (Malpighiaceae) y *Ehretia tinifolia* “pingüica” (Boraginaceae) han sido utilizadas en la medicina tradicional mexicana como calmantes de los nervios principalmente en el estado de Morelos (Medicina Tradicional Mexicana, 2014). Hasta el momento, no se han reportado antecedentes de estudios químicos y farmacológicos de estas especies. El presente trabajo es el primero que analiza los efectos neurofarmacológicos de los extractos de *M. mexicana* y *E. tinifolia* en modelos biológicos.

En la presente investigación se demuestra que *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia* han evidenciado tener un efecto antidepresivo, ansiolítico y sedante, bajo condiciones controladas, para la elaboración de esta investigación se cortaron las hojas de dichas especies vegetales para realizar las pruebas farmacológicas y fitoquímicas del extracto metanólico.

Todas las pruebas farmacológicas utilizadas en este trabajo de investigación las cuales son natación forzada (NF), laberinto de cruz elevado (LEC), campo abierto (CA) e hipnosis inducida con pentobarbital, funcionaron con los parámetros empleados debido a que los controles positivos (T6) logran tener diferencia significativa con los controles negativos (T5).

La prueba de natación forzada es un modelo biológico avalado a nivel internacional para evaluar el efecto antidepresivo de extractos vegetales y de compuestos de síntesis (Zhang, 2004). Durante la prueba los animales se colocan en una situación de estrés, donde la actividad antidepresiva se expresa en disminuir el tiempo de inmovilidad (Machado et al., 2008). La inmovilidad podría reflejar un efecto de desesperanza conductual, indicando un indicio de la incapacidad que constituye un síntoma de la depresión (Kirby y Lucki 1997). De acuerdo con lo antes mencionado, en el presente estudio se demuestra que la administración oral del extracto metanólico de *Ehretia tinifolia* (EMEt) a las dosis (100 mg/kg) T1, (200 mg/kg) T2, (400 mg/kg) T3 y (600 mg/kg) T4 fueron capaz de disminuir significativamente el tiempo de inmovilidad de los ratones

en el cilindro con agua, evidenciando así un efecto antidepresivo. Los tratamientos 1 y 2 se encuentran dentro del rango de dosis efectiva (50 a 200 mg/kg) reportada para *Onosma bracteatum* (Asif, Hayee, Aslam, Ahmad & Hashmi, 2019) especie que también pertenece a la familia Boraginaceae. A pesar de que al realizar la curva dosis respuesta en la prueba NF, se esperaba observar que el efecto biológico aumentara de manera proporcional con la relación a la dosis (hasta la dosis máxima de 600 mg/kg), cabe recalcar que los efectos biológicos pueden ser inversamente proporcional con respecto a la dosis administradas, se puede observar que la disminución de la actividad podría ser debida a que los compuestos presentes en el extracto sean tan numerosos que estén ocupando todos los receptores disponibles en la célula por lo que se produce un efecto máximo. Las propiedades antidepresivas observadas podrían estar relacionadas con la presencia de diferentes grupos de compuestos presentes en el extracto de EMEt y que fueron detectados en el presente trabajo: terpenos y cumarinas.

Aunque no se puede saber con exactitud que mecanismo de acción por el cual actúa el extracto de EMEt, la fisiopatología asociada al trastorno de depresión indica de cierta manera que la planta puede modificar la neurotransmisión de los sistemas serotoninérgicos y adrenérgicos, siendo estos los más estudiados y reconocidos. Recordando además que en la clínica uno de los fármacos más recetados por excelencia para tratar la depresión es la imipramina un fármaco de origen tricíclico el cual tiene como mecanismo de acción inhibir la recaptura de la serotonina, teniendo validación en el modelo NF (Lucki, 1997).

Por otro lado, el extracto metanólico de *Malpighia mexicana* (EMMm) en la prueba de NF a las dosis de (100 mg/kg) T1, (200 mg/kg) T2, (400 mg/kg) T3 y (600 mg/kg) T4 no fue capaz de disminuir el tiempo de inmovilidad de los ratones en el cilindro lleno de agua, evidenciando que no posee efecto antidepresivo. La dosis de 600 mg/kg se encuentra dentro del rango de dosis efectiva (500 a 1000 mg/kg) reportada en la especie *Byrsonima crassifolia* (García, 2010), especie que también pertenece a la familia Malpighiaceae, el compuesto aislado al que se le atribuyó dicho efecto antidepresivo es de tipo flavonoide.

El extracto de *EMEt*, también pudo evidenciar un efecto ansiolítico en la prueba de laberinto de cruz elevado (LEC), dicha prueba está validada internacionalmente para la evaluación y descubrimiento de extractos y compuestos ansiolíticos y ansiogénicos. Este modelo se basa en respuesta a ambientes desconocidos, pero potencialmente peligrosos (Holmes et al., 2000) representados por la exposición a los brazos abiertos, provocando una sesión de estrés en los roedores, llevándolos a evitar pasar por ahí y exhibiendo conductas relacionadas con la ansiedad (Pellow, 1986). Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que el extracto *EMEt* provocó un efecto ansiolítico logrando tener un aumento significativo en los parámetros evaluados en la prueba de LEC a la dosis de (100, 200, 400 y 600 mg/kg). Dicha actividad en la curva dosis-respuesta se puede observar que alcanzó un efecto máximo en T1 (100 mg/kg) la proporción de dicho efecto no se incrementará aun cuando se administren dosis mayores ya que los receptores alcanzan una máxima respuesta farmacológica aun cuando se empleen concentraciones del agonista que no originen la ocupación total de los receptores disponibles. Bajo el empleo del modelo sigmoideal, se ha determinado que el extracto agonista en presencia de diferentes concentraciones de un antagonista irreversible, ejerce su  $E_{max}$  con desplazamientos de la curva hacia la derecha. Concentraciones más altas del antagonista disminuyen la respuesta máxima por la reducción de receptores disponibles para ejercer dicho efecto. En este sentido, la interacción fármaco-receptor es un fenómeno temporal y relativo, por lo que la sensibilidad de respuesta a un compuesto químico depende de la afinidad del receptor por el compuesto y de la cantidad total de receptores (Aguirre Crespo & Sánchez Salgado, 2010). De tal manera que los resultados del presente trabajo revelan un comportamiento ansiolítico que se acerca al de otras especies vegetales que pertenecen a la misma familia botánica Boraginaceae, como es el caso de *E. italicum* donde el extracto acuoso y etanólico evidencian efectos ansiolíticos en las dosis de (0.6, 1.2 y 2.1 g/kg) (Hosseinzadeh, Shahandeh and Shamsavand, 2012), recordando que T1 del extracto *EMEt* no se encuentra dentro de rangos de dosis, sin embargo, en el parámetro de tiempo de permanencia en los brazos cerrados en la prueba de LEC se puede evidenciar que el T4 (600 mg/kg) si entra en el rango de dosis utilizadas en la especie *E. italicum* en donde dichas dosis logran tener una disminución en TC,

demostrando que el roedor no estaba ansioso y evidenciando un efecto de ansiolisis, logrando tener una diferencia significativa con el control negativo T5.

Por otro lado, en el extracto de *EMMm* se pudo observar un efecto ansiolítico en la prueba de LEC. Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que el extracto provocó un aumento significativo en los parámetros evaluados en la prueba de LEC a las dosis de (100, 200, 400 y 600 mg/kg) exhibiendo así un efecto ansiolítico. Dicha actividad se observa como un cambio dependiente de la dosis, ya que el efecto máximo lo encontramos en la dosis de (400 mg/kg). Este efecto podría estar relacionado con concentraciones a las cuales los receptores están en completa ocupación (Mendoza, 2008). Aún más, los resultados de este extracto se pueden comparar con especies vegetales que pertenecen a la misma familia botánica Malpighiaceae, como es el caso de *Galphimia glauca* donde un fitomedicamento elaborado a partir del extracto metanólico estandarizado en sus compuestos activos logró disminuir la ansiedad en los pacientes con una magnitud similar lograda con loracepam, uno de los fármacos mayor recetados para tratar la ansiedad (Tortoriello et al., 2006; Tortoriello y Ortega, 1993).

Aunque no se puede saber con exactitud cuáles son los mecanismos de acción que ejercen los extractos de *EMEt* y *EMMm*, la fisiopatología asociada al trastorno de ansiedad indica de cierta manera que las plantas pueden modificar la neurotransmisión del GABA, específicamente de los receptores GABA<sub>A</sub> ya que son el sitio de acción para el principal neurotransmisor inhibitor del cerebro, además de que interaccionan con numerosos fármacos de tipo benzodiazepinas de uso clínico con propiedades ansiolíticas, anticonvulsivantes y sedativas, esto induce un aumento de la frecuencia de apertura de los canales Cl<sup>-</sup> activados por este ligando, manifestándose en forma de efectos inhibitorios sobre la célula postsináptica (Taylor y Nutt, 2004; Dawson et al., 2003).

Adicionalmente se realizó la prueba de campo abierto (CA), para descartar falsos positivos en la prueba de LEC, el ensayo de CA permitió analizar el efecto excitador o depresor del sistema locomotor esto a través de la actividad exploratoria del roedor en un ambiente desconocido que a su vez puede presentar un peligro a pesar del estrés

generado (Prut y Belzung, 2003). Los resultados demostraron que la curva dosis-respuesta del extracto *EMEt* a las dosis de (100, 200, 400 y 600 mg/kg) exhibieron propiedades ansiolíticas sin afectar la actividad motora espontánea en la prueba de CA, por lo tanto, se puede deducir que el efecto ansiolítico de *Ehretia tinifolia* no está asociada con una depresión general del SNC a estas dosis, logrando tener un efecto máximo en T4. Cabe recalcar que los fármacos del grupo benzodiazepinas son utilizados en la clínica para tratar la ansiedad, además que a dosis altas provocan un efecto de depresión general del SNC. Adicionalmente en la prueba de hipnosis inducida con pentobarbital, también usada para medir la sedación, el extracto *EMEt* no provocó un efecto de potenciación de pentobarbital, los compuestos extraídos en este extracto no presentaron un efecto sedante en las dosis evaluadas, al respecto, es sabido que no todos los extractos o compuestos que tienen un efecto depresor del sistema nervioso presentan todo el espectro depresor del sistema nervioso, Tortoriello y Lozoya (1992) evaluaron el extracto metanólico de *Galphimia glauca* (Malpighiaceae) y encontraron que tuvo un efecto sedante, anticonvulsivante, efecto inhibidor del reflejo peristáltico *in vitro*. Posteriormente Tortoriello y Ortega (1993) aislaron de ese extracto un compuesto del tipo triterpénico denominado Galphimina B, el cual no presentó efecto anticonvulsivante pero si tenía efecto sedante e inhibidor del reflejo peristáltico *in vitro*, y efecto ansiolítico (Herrera-Ruiz et al., 2006a).

Por otra parte, los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que el extracto de *EMMm* provocó un aumento significativo en los parámetros evaluados en la prueba de CA a las dosis (100, 200, 400 y 600 mg/kg) evidenciando que la curva dosis-respuesta alcanza un máximo efecto en la dosis de (600 mg/kg) T4, todas las dosis administradas fueron capaces de tener propiedades ansiolíticas sin afectar la actividad motora espontánea, por tanto podemos decir que dicho efecto ansiolítico no está asociada con una depresión general del SNC. En la prueba de hipnosis inducida con pentobarbital, también usada para medir la sedación, el extracto *EMMm* provocó un efecto de potenciación del estado hipnótico del pentobarbital logrando tener cambios significativos a las dosis de (100, 200, 400 y 600 mg/kg) indicando así actividad sedante, además que se puede observar que todas las dosis administradas con el extracto tienen un efecto

similar entre sí, por lo que podemos decir que alcanzó el efecto máximo. El efecto registrado en el extracto *EMMm*, puede deberse a la presencia de compuestos de tipo flavonoide que fueron detectados en el presente trabajo de investigación, es probable que alguno de los compuestos presentes en el extracto *EMMm* se unan al receptor GABA-A potenciando el efecto farmacológico del pentobarbital.

Los resultados del presente estudio muestran que el extracto de *EMEt* presentó actividad antidepresiva y ansiolítica en modelos *in vivo* en ratones CD-1. Dichas actividades son sugeridas por la presencia de los dos grupos de compuestos identificados en el extracto: terpenos y cumarinas. Por otro lado, el extracto de *EMMm* presentó actividad ansiolítica y sedante en modelos *in vivo* en ratones CD-1. Dichas actividades son sugeridas por la presencia del grupo de compuesto identificado en el extracto: flavonoides.

De acuerdo con la literatura científica, numerosos estudios sugieren que los flavonoides poseen múltiples efectos a nivel biológico como son antiinflamatorios, antidepresivos, ansiolíticos, antioxidantes y anticancerígeno (Herrera-Ruiz et al., 2006; Castillo et al., 2004). Además, se ha demostrado que los flavonoides pueden actuar sobre el sitio de unión a benzodiazepinas en el receptor GABA<sub>A</sub> en modelos de convulsiones, ansiedad y sedación (Soulimani et al., 1997). Por otro lado, los compuestos de tipo cumarinas han evidenciado tener efectos biológicos como son antitumoral, antiinflamatorios y antisépticos entre otros (Liu, H., 2011).

Por lo tanto, los extractos de *EMEt* y *EMMm* pueden ser comparados con otras especies de la misma familia que han demostrado poseer efectos a nivel biológico similares, cabe recalcar que los compuestos encontrados en *Galphimia glauca* y *Echium italicum* son de polaridad alta de igual manera en las especies de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia*, lo que da a nuestras plantas de estudio una ventaja para investigaciones posteriores, debido a que existe la probabilidad de preparar extractos con disolvente de polaridad intermedia y baja, que posea las propiedades biológicas no sólo ansiolítica y sedante, si no también antidepresiva y anticonvulsiva.

Por todo lo evidenciado anteriormente, las especies *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia* podrían ser candidatas para investigaciones posteriores que permitan identificar los compuestos responsables de los efectos ansiolíticos, antidepresivos y sedantes observados *in vivo* en roedores.

## 9 Conclusiones

Se logró la localización de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia* de origen silvestre en la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, lo cual permitió la obtención de material biológico para los estudios fitoquímicos y farmacológicos.

En el extracto de *EMEt* se observan la presencia de grupos de compuestos tales como abundantes terpenos y presencia moderada de cumarinas, por lo que se sugiere que la actividad exhibida en los diferentes modelos biológicos pudiera deberse a la presencia de estos grupos de compuestos.

En el extracto de *EMMm* se observa la presencia de un grupo de compuestos abundantes los cuales son de tipo flavonoide, por lo que se sugiere que la actividad exhibida en los diferentes modelos biológicos pudiera deberse a la presencia de estos grupos de compuestos.

El extracto metanólico de hojas de *E. tinifolia* posee importantes propiedades antidepresivas y ansiolíticas al ser administrado oralmente en ratones CD-1 en los modelos como natación forzada, laberinto de cruz elevado y campo abierto, sin modificar la actividad motora espontanea.

El extracto metanólico de hojas de *M. mexicana*, posee importantes propiedades ansiolíticas y sedante al ser administrado oralmente en ratones CD-1 en los modelos como laberinto de cruz elevado, campo abierto y actividad sedante con pentobarbital.

Los resultados del presente trabajo demuestran que los extractos de hojas silvestres de *M. mexicana* y *E. tinifolia* tienen efecto antidepresivo, ansiolítico y sedante, mismos que han sido reportados en otras especies pertenecientes a la misma familia.

## 10 Perspectivas

- Continuar con la separación, elucidación de la estructura e identificación de los compuestos del tipo flavonoide, terpeno y cumarinas presentes en el extracto metanólico provenientes de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia*.
- Evaluar la interacción de los compuestos mayoritarios que son los flavonoides, terpenos y cumarinas e investigar el mecanismo de acción de dichos compuestos responsables de la actividad ansiolítica, antidepresiva y sedante.
- Realizar la evaluación del efecto anticonvulsivante de los extractos aquí evaluados.
- Evaluar dosis menores a 100 mg/kg del extracto *EMEt* en el modelo de laberinto de cruz elevado.
- Proponer métodos de obtención de la fracción activa de una forma eficiente, para el desarrollo de nuevos fitomedicamentos.
- Realizar estudios de toxicidad en ratones CD-1 para conocer si el extracto induce algún efecto colateral o tóxico a mediano y largo plazo.

## 11 REFERENCIAS.

### A

- Ables A y Baughman O, (2003). Antidepressants: update on new agents and indications. *American Family Physician*; 67: 547-554.
- Abolí M, D'Antuono M, Louvel J, Kohling R, Biagini G, Pumain R, D'Arcangelo G y Tancredi V, (2002). Network and pharmacological mechanisms leading to epileptiform synchronization in the limbic system in vitro. *Progress in Neurobiology*; 68: 167-207.
- American Epilepsy Society Guideline. Glauser T, Shinnar S, Gloss D, Alldredge B, Arya R, Bainbridge J et al, (2016). Evidence-Based Guideline: Treatment of Convulsive Status Epilepticus in Children and Adults: Report of the Guideline Committee of the American Epilepsy Society, *Epilepsy Currents*; 1(16): 48–61.
- Anderson C, Anderson W, Davis C y Douthit H, (2010). <http://herbarium.lsa.unmich.edu/malpigh/index.html>. Consultado el 25 de Agosto 2019.
- Anderson R, (1979). Floral conservatism in neotropical Malpigiaceae. *Biotropica*; 11: 2219-2223.
- Argueta, C. Z. A. and S. Mata, (2009). Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. *Ehretia tinifolia* L. Universidad Nacional Autónoma de México, D. F., México. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Ehretia%20tinifolia&id=7291>.
- Argueta, A., Cano, L., Rodarte, M. (Eds.), (1994). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional *Mexicana*. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional *Mexicana*. Universidad Nacional Autónoma de México. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>, accessed Dec 2018.
- Archer, J, (1973). Tests for emotionality in rats and mice: A review. *Animal Behaviour*, 21(2), 205-235. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472\(73\)80065-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472(73)80065-X).
- Asenjo, C. F. y C. G. Moscoso, (1950). Ascorbic acid content and other characteristics of the West Indian Cherry. *Journal of Food Science* 15(2): 103-106.

## B

- Baldwin DS, Ajel KL y Garner MJ, (2008). Anxiolytic disorders. *Medicine*; 36 (8): 415-421.
- Baños DJ y Farré AM, (2002). *Principios de Farmacología clínica*. 1th ed. España; Masson.
- Benítez-Badillo, G., M. T. P. Pulido-Salas and M. Equihua-Samora, (2004). Árboles multiusos nativos de Veracruz para reforestación, restauración y plantaciones. Instituto de Ecología; A.C., Sigolfo, Conafor. Xalapa, Veracruz, México. 108 p.
- Bourin, M, (2015). Animal models for screening anxiolytic-like drugs: a perspective *Dialogues in clinical neuroscience*, 17(3), 295-303.
- Bondy B, Baghi TC, y Minov, (2003). Substance P serum levels are increased in major depression: preliminary results. *Biological Psychiatry*; 53: 538-542.

## C

- Curtis, D.R., Duggan, A.W., Felix, D., Johnston, G.A, (2004). Bicuculline and central GABA receptors; *Nature* 228, 676–677.
- Charney DS, Wodds SW, Goodman WK y Heninger GR, (1987). Neurobiological mechanisms of panic anxiety: biochemical and behavioral correlates of yohimbine induced attacks. *The American Journal of Psychiatry*; 144: 1030-1037.

## D

- Davis M, (2002). The Neurobiological Basis of ANxiety Disorders. En: Kenneth LD, Charney D, Coyle JT y Nemeroff C. *Neuropsychopharmacology* 5th ed. USA: Williams and Wilkins Publishers. p. 946-953.
- Dawson US, Taylor MN y Reide PJ, (2003). *Lo esencial en la farmacología*. 2th ed. España: El sevier.
- Dorado, O, (2005). PROGRAMA DE CONSERVACIÓN Y MANEJO RESERVA DE LA BIOSFERA SIERRA DE HUAUTLA; (1th ed., p. 5). México, D. F.: Dirección General de Manejo para la Conservación, CONANP.
- Del castillo S, González-Lavaut J. González J, Prieto-González S y Urquiola-Cruz A, (2004). Identificación fitoquímica de las hojas y ramas de la *Helietta Cubensis*

Monach-Moldenke, especie endémica de Cuba. *Revista Cubana de Farmacia*; 38 (1): 1-3.

## E

- Escohotado A, (1995). *Historia General de las Drogas*. España: Alianza.

## F

- File, S. E., Kenny, P. J., & Cheeta, S, (2000). The Role of the Dorsal Hippocampal Serotonergic and Cholinergic Systems in the Modulation of Anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 66(1), 65-72. do: [http://dx.doi.org/10.1016/S0091-3057\(00\)00198-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0091-3057(00)00198-2).
- Flórez J. Armijo JA y Mediavilla A, (2005). *Farmacología Humana*. 4th ed. España: Masson.
- Flora de Nicaragua, (2009). *Malpighia mexicana* A. Juss. <http://www.tropicos.org/name/19500431?projectid=7>. Consultado el 30 de agosto 2019.

## G

- García A, (2003). Evaluación de la actividad antiepiléptica y teratogénica del ácido 2- metoxi-4-(2-propenil) fenoxiacético. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias quimicobiológicas. ENCB-IPN. México.
- García MP, (2010). Evaluación de la actividad antidepresiva y ansiolítica de los extractos de *Brysonima crassifolia* (Malpighiaceae). Tesis de licenciatura de Biología. México: Universidad Autónoma Del estado de Morelos (UAEM).
- Guízar, N. E. y V. A. Sánchez, (1991). Guía para el reconocimiento de los principales árboles del Alto Balsas. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México; 207 pp.
- González-Cortazar, M., Tortoriello, J, (2006). Anxiolytic and antidepressant-like activity of a standardized extract from *Galphimia glauca*. *Phytomedicine* 13, 23-8.
- Guzmán, L., Reyes, R., & Bonilla, H, (2014). *Medicinal plants for the treatment of "nervios", anxiety, and depression in Mexican Traditional Medicine* [Ebook] (p. 6). Coyoacán, México. Retrieved from

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102695X2014000500591](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102695X2014000500591).

- Grupo de Trabajo de la Guía de Práctica Clínica para el Manejo de Pacientes con Trastornos de Ansiedad en Atención Primaria. Madrid, (2008). Plan Nacional para el SNS del MSC. Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Agencia Laín Entralgo. Comunidad de Madrid. Guías de Práctica Clínica en el SNS: UETS N° 2006/10.
- González-Cortazar, M., Herrera-Ruiz, M., Zamilpa, A., Jiménez-Ferrer, E., Marquina, S., Álvarez, L., & Tortoriello, J, (2014). *Anti-Inflammatory Activity and Chemical Profile of Galphimia glauca* [Ebook] (p. 3). Cuernavaca, Morelos, México. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24338551>.

## H

- Heinze G, Camacho PV, (2010). Guía clínica para el Manejo de la Depresión. Ed. S Berenzon, J Del Bosque, J Alfaro, ME Medina-Mora. México: Instituto Nacional de Psiquiatría. (Serie: Guías Clínicas para la Atención de Trastornos Mentales).
- Holmes A, Paramigiani S, Ferrari PF, Palanza P y Rodgers RJ, (2000). Behavioral profile of will mice in the elevated plus-maze test for anxiety. *Physiology and Behavior*; 71: 509-516.
- Herrera-Ruiz M, González-Cortazar M, Jiménez-Ferrer E, Zamilpa A, Álvarez L, Ramírez G, Tortoriello J, (2006). Anxiolytic effect of natural galphimines from *Galphimia glauca* and their chemical derivatives. *J Nat Prod*; 69: 59–61.
- Huerta-Reyes, M., Herrera-Ruiz, M., González-Cortazar, M., Zamilpa, A., León, E., & Reyes-Chilpa, R. et al, (2013). *Neuropharmacological in vivo effects and phytochemical profile of the extract from the aerial parts of Heteropterys brachiata (L.) DC. (Malpighiaceae)* [Ebook] (p. 5). México D.F. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874113000056?via%3Dihub>.
- Herrera-Ruiz, M., Zamilpa, A., González-Cortazar, M., Reyes-Chilpa, R., León, E., García, M., Tortoriello, J. and Huerta-Reyes, M, (2011). *Antidepressant effect and pharmacological evaluation of standardized extract of flavonoids from Byrsonima*

*crassifolia*. [online] ELSEVIER. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0944711311002248?via%3Dihub> [Accessed 12 Jun. 2019].

- Huerta-Reyes, M., Herrera-Ruiz, M., González-Cortazar, M., Zamilpa, A., León, E., Reyes-Chilpa, R., Aguilar-Rojas, A. and Tortoriello, J, (2013). *Neuropharmacological in vivo effects and phytochemical profile of the extract from the aerial parts of Heteropterys brachiata (L.) DC. (Malpighiaceae)*. [online] ELSEVIER. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874113000056?via%3Dihub> [Accessed 21 Jul. 2019].
- Huerta-Reyes, M., Zamilpa, A., Álvares-Chimal, R., Luna-Manzanares, J., León-Velasco, M., Aguilar-Rojas, A., Jiménez-Estrada, M. and Campos-Lara, M, (2013). *Heteropterys cotinifolia: A Neuropharmacological and Phytochemical Approach with Possible Taxonomic Implications*. [online] Hindawi. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2013/870468/> [Accessed 17 May 2019].
- Holsboer e Ising M, (2008). Central CRH system in depression and anxiety evidence from clinical studies with CRHL receptor antagonists. *Europea Journal of Pharmacology*; 583: 350-377.
- Hosseinzadeh, H., Shahandeh, S. and Shahsavand, S, (2012). *Anxiolytic and Hypnotic Effects of Aqueous and Ethanolic Extracts of Aerial Parts of Echium italicum L. in Mice..* [online] NCBI. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24624158> [Accessed 14 Jul. 2019].

## I

- (INEGI), I, (2012). Intentos de suicidio y suicidios. Retrieved 24 August 2019, from <https://www.inegi.org.mx/programas/suicidio/>.

## J

- Jablonski, J.E., Jackson, L.S, (2008). Stability of picrotoxin during yogurt manufacture and storage. *Journal of Food Science* 73, T121–T128.
- Jarquín, R, (2007). Parasitoides asociados a insectos en frutos de Nanche rojo (*Malpighia mexicana*). Tesis de Licenciatura. Centro Interdisciplinario de

Investigación para el Desarrollo Regional. Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional. Oaxaca. México. 72 pp.

- Jardín Botánico de Missouri (JBM), (2016). *Malpighia mexicana*. <http://www.tropicos.org/Name/19500431?tab=subordinatetaxa>. Consultado el 25 de agosto 2019.
- Johnston, G.A., Curtis, D.R., De Groat, W.C., Duggan, A.W, (1968). Central actions o ibotenic acid and muscimol. *Biochemical Pharmacology* 17, 2488–2489.
- Juárez, Delgado J. C, (1998). La familia Malpighiaceae en el estado de Morelos. Tesis Biólogo Universidad Autónoma del Estado de Morelos 110 pp.

## K

- Kandel ER, Schwartz JH., Jessel TM, (2000). Disorders of mood: depression, mania, and anxiety disorders. *Principles of Neuronal Science*. , 4th ed. McGraw-Hill, pp. 1209–1226 (Ch. 61).
- Kandel ER, Schwarts JH y Jesell TM, (2001). *Principios de Neurociencia*. 4th ed. España: MaGraw-Hill Interamericana.
- Kaufman J, Yang B, Douglas-Palumben S, Krystal J y Gelenter J, (2005). Brain-Derived Neurotrophic and Environmental modifiers of depression in children. *Biological Psychiatry*; 59: 677-690.
- Komaki, A., Rasouli, B. and Shahidi, S, (2015). *Anxiolytic Effect of Borago officinalis (Boraginaceae) Extract in Male Rats*. [online] Research Article. Available at:<https://pdfs.semanticscholar.org/2ce3/b9182b1d6c07363f48ea939165c733a49945.pdf> [Accessed 21 Aug. 2019].
- Kirby LG y LuCKI I, (1997). Interation between the forced swimming test and fluoxetine treatment on extracelular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindolacetic acid in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*; 282(2): 967-976.

## L

- Landgraf R, (2006). The involvement of the vasopressin system in stress-related disorders CNS. *Neurological Disorders-Drug Targets*; 5(2): 167-179.

- León, J., Díaz, S., López, M., Montes, J., López, G., & Delgado, F, (2012). *Physicochemical, nutritional, and antioxidant characteristics of the fruit of Ehretia tinifolia* [Ebook] (p. 2). Irapuato, Guanajuato, México. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/425/42523212028.pdf>.
- Lewis SM, Heitkemper MM, Dirksen SR, O'Brien Pg Giddens JE y Bucher L, (2004). *Enfermería medico quirúrgica*. 6th ed. España: El sevier.
- Lister, R, (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, 92(2), 180-185. doi: 10.1007/bf00177912.
- Lira-Charco, E. M. y Ochoterena, H, (2012). Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Instituto de Biología UNAM. Fascículo 110: 1-98 pp.
- Liu, H, (2011). Extraction and Isolation of compounds from Herbal medicines. *Traditional Herbal Medicine Research Methods*. Editado por Willow JH Liu, John Wiley and Sons, Inc.
- Litter M, (1988). *Farmacología experimental y clínica*. 7th ed. Argentina: El ateneo.
- López CA, Moreno RL y Villagrasa SV. *Manual de farmacología.*, 2006. 1th ed. España: Elsevier.
- Lucki I, (1997). The forced swimming test as model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behavior Pharmacology*; 8: 523-532.

## M

- Manchado DG, Bettio LEB, Cunha MP, Santos ARS, Pizzolatti MG, (2008). Brighente IMC y Rodrigues ALS. Antidepressant-like effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: Evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *European Journal of Pharmacology*; 587: 163-168.
- Manji HK, Moore GJ, Chen G, (2001). Bipolar disorder: leads from the molecular and cellular mechanisms of action of mood stabilisers. *The British Journal of Psychiatry*; 178:107-119.
- Maletic V, Robinson M, Oakes T, Lyenger S, Ball SG y Russell J, (2007). Neurobiology of depression: an integrated view of key findings. *International Journal of clinical practice*; 61 (12): 2030-2040.

- Mason S, Bakerk, Davis K, Posorelov V, Malbari M, Ritter R, Way S, Gerhardt B, Lanthorn T y Savelleva K, (2008). Differential sensitivity to SSRI and tricyclic antidepressants in Juvenile and adult of three strains. *European Journal of Pharmacology*; 602 (2-3): 306-315.
- Maldonado Peralta, M., García de los Santos, G., García Nava, J., Corona Torres, T., Cetina Alcalá, V., & Ramírez Herrera, C, (2016). *Calidad morfológica de frutos y endocarpios del nanche rojo (Malpighia mexicana, Malpighiaceae) [Ebook] (1st ed.)*. Pátzcuaro, México: Instituto de Ecología, A.C. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/abm/n117/2448-7589-abm-117-00037.pdf>.
- Márquez-Salazar G, (1997). *Etnobotanica Yoreme (Mayos) en dos comunidades del Norte de Sinaloa*. Tesis de Maestria, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Mexico.
- *Medicina Tradicional Mexicana*, (2014). Retrieved 14 January 2019, from <https://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:798450>.
- Mihic, S. J., & Harris, R. A, (2011). Hypnotics and sedatives. In L. L. Brunton, B. A. Chambner & B. C. Knollmann (Eds.), *Goodman & Gilman's The Parmacological Basis of Therapeutics (12th ed., pp. 457-480)*: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Miranda, F, (1998). *La vegetación de Chiapas*. 3ª edición. Ed. Ciencias Naturales y Geografía. Chiapas, México. 386 pp.
- Morton, J. F, (1987). Barbados Cherry In: *Fruits of warm climates* Miami, FL. 204-207 pp.
- Monrroy-Ortíz, C. and R. Monrroy, (2006). *Las plantas, compañeras de siempre. La experiencia en Morelos*. UAEM, Conabio, CIB-UAEM, Conanp. Cuernavaca, Morelos, México. p. 201.
- Müller M, Zimmermann S, Sillaber I, Hagemeyer T, Deussing J, Timpl P, Kormann M, Droste S, Kühn R, Reul J, Holboer F y Wurst W, (2003). Limbic corticotropin-releasing hormone receptor 1 mediates anxiety-related behavior and hormonal adaptation to stress. *Nature Neuroscience*; 6: 1100-1107.
- McArthur, R., Borsini, F, (2006). *Animal models of depression in drug discovery: A historical perspective*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 84:436-452.

- Mycek MJ, Harvey RA y Champe D, (2006). *Farmacología* 2th ed. México: McGraw-Hill Interamericana.

## N

- National Institute of Mental Health (NIMH), (2010). <http://www.nimh.nih.gov/index.shtml>. Consultado el 22 de septiembre del 2019.
- Niembro, E., Vázquez, M. y Sánchez, O, (2010). *Árboles de Veracruz*. Editorial IVID. México, D. F. 49 pp.

## O

- O'Brien, C.O, (2005). Benzodiazepine use, abuse, and dependence. *Journal of Clinical Psychiatry* 66, 28–33.
- Olatunji, B.O., Cisler, J.M., Tolin, D.F, (2007). Quality of life in the anxiety disorders: a meta-analytic review. *Clinical Psychology Review* 27, 572–581.
- Organización Mundial de la Salud, (2019). *Depresión*. [online] Available at: <https://www.who.int/topics/depression/es/> [Accessed 21 Apr. 2019].
- Organización Mundial de la Salud, (2019). *Salud mental*. [online] Available at: [https://www.who.int/mental\\_health/es/](https://www.who.int/mental_health/es/) [Accessed 21 May 2019].

## P

- Porsolt R., Le Pichon M., Jalfre M, (1977). Depression: new model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266: 730- 732.
- Pellow S, Chopin P, File SE y Briley M, (1985). Validation of open: Closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*; 14(3): 149-167.
- Potter WZ y Hollister LE, (2005). Antidepresivos. En: Katzung Bertram G. *Farmacología básica y clínica*. 9th ed. México: El Manual Moderno;p. 481-494.
- Prut, L., & Belzung, C, (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463(1–3), 333. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X).

## R

- Rang HP, Dale MM, Ritter JM y Flower RJ, (2008). *Farmacología*. 6th ed. España: Elsevier.
- Red Mundial de Información sobre Biodiversidad (REMIB), (2015). *Malpighia mexicana*. <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/remibnodosdb.Html>. Consultado el 31 de agosto 2019.
- Rizk A, (1982). Constituents of plants growing in Qatar. I. A chemical survey of sixty plants. Scientific And Applied Research Centre. Qatar University; 35-44.
- Rubí Arriaga, M.; Martínez-De La Cruz, I.; González Huerta, A.; de Jesús Pérez López, Delfina; Cruz Castillo, J. G.; Guadarrama Martínez, N, (2014). Catálogo de especies frutales presentes en el sureste del Estado de México, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 5 (8): 1509-1517.

## S

- Schatzberg AF, Blier P, y Delgado PL, (2006). Antidepressant discontinuation syndrome: consensus panel recommendations for clinical management and additional research. *Journal of Clinical Psychiatry*; 67(4): 27-30.
- Somers, J.M., Goldner, E.M., Waraich, P., Hsu, L, (2006). Prevalence and incidence studies of anxiety disorders: a systematic review of the literature. *Canadian Journal of Psychiatry* 51, 100–113.
- Soulimani R, Younos C, Jarmouni S, Bousta D, Misslin R, Mortier F, (1997). Behavioural effects of *Passiflora incarnata* L. and its indole alkaloid and flavonoid derivatives and maltol in the mouse. *Journal Ethnopharmacology*; 57(1): 11-20.
- Southwick S, Vythilingam M y Chayney D, (2005). The psychobiology of depression and resilience to stress: implications for prevention and treatment. *Annual Review of clinical psychology*;1: 255-291.
- Sayyah, M., Boostani, H., Pakseresht, S. and Malaieri, A, (2009). *Efficacy of aqueous extract of Echium amoenum in treatment of obsessive-compulsive disorder*. [online] ELSEVIER. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278584609002814?via%3Dihub> [Accessed 19 Sep. 2019].

- Shafaghi B, Naderi N, Tahmasb L, Kamalinejad M, (2002). Anxiolytic effect of *Echium amoenum* L. in mice. *Iran J Pharm Res*;1: 37-41.
- Ströhle A, (2003). The neuroendocrinology of stress an the pathophysiology and therapy of depression and anxiety. *Nervenarzt*; 74(3): 279-91.

## T

- Tortora GJ y Derrickson B, (2006). *Principios de Anatomía y Fisiología*. 11th ed. México: Medical Panamericana.
- Tortoriello, J., & Lozoya, X, (1992). Effect of *Galphimia glauca* Methanolic Extract on Neuropharmacological Tests. *Planta Med*, 58(03), 234-236. doi: 10.1055/s-2006-961442.
- Tortoriello J y Ortega A, (1993). Sedative effects of galphimine-B a Nor, seco triterpenoid from *Galphimia glauca*. *Planta Médica*; 398-400.
- Taylor C y Nutt D, (2004). *Anxiolitics Medicine*; 3 (7): 17: 21.
- Taylor W y Crepet L, (1987). Fossil floral evidence of Malpighiaceae and early plant pollinator relationship. *American Journal of Botany*; 74(2): 274-286.
- Trevor AJ y Way WI, (2005). Sedantes hipnóticos. En Katzung Bertrom G. *Farmacología Básica y clínica* 9th ed. México: El manual modernos p. 353-367.
- TROPICOS, (2017). *Tropicos.org*. Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org>. Consultado el 2 de septiembre 2019.

## V

- Vinci S, Ortinski P, (2004). Genetic manipulations of GABAA receptor in make inhibition exelting. *Pharmacology and Therapeutics*; 103: 1009-120.

## W

- Wagner H, Blandt S y Zgainski E, (1994). *Plant Drug Analysis*. New York, Tokyo y Alemania: Ed. Escott.
- Walsh, R., & Cummins, R, (1975). Mechanisms mediating the production of environmentally induced brain changes. . *Psychological Bulletin.*, 82, 986-1000.
- Whiting, P.J, (2003). GABA-A receptor subtypes in the brain: a paradigm for CNS drug discovery? *Drug Discovery Today* 8, 445–450.
- Who.int, (2019). *OMS | Epilepsia*. [online] Available at: <https://www.who.int/topics/epilepsy/es/> [Accessed 12 Mar. 2019].

## Z

- Zolla, L, (1990). Medicina Tradicional y sistemas de salud (obstáculos y posibilidades para la integración del saber medico tradicional), Memorias del Cuarto Coloquio de Medicina Tradicional *Mexicana*. Un Saber en Integracion, ENEP Zaragoza, ENEP Zaragoza, UNAM, Mexico.
- Zolla, C., Del Bosque, S. Tascon, M.A., Mellado, V.C, (1988). Medicina Tradicional y Enfermedad. Centro Interamericano de Estudios de Seguridad Social/Instituto Mexicano del Seguro Social, Mexico, D.F., pp. 83–99 (Cap. V).
- Zhang, Z, (2004). Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. *Life Sciences* 75, 1659–1699.

## 12 REFERENCIAS DE FIGURAS

- Benzodiacepinas: mecanismo de acción, usos y efectos - Lifeder, (2020). Retrieved 27 January 2020, from <https://www.lifeder.com/benzodiacepina>.
- Galindo Leal, C, (2018). Ehretia tinifolia. Retrieved 24 January 2019, from <http://bdi.conabio.gob.mx/fotoweb/archives/5023Plantas/Plantas/CGL4424%20Ehretia%20tinifolia.jpg.info>.
- Maldonado Peralta, M., García de los Santos, G., García Nava, J., Corona Torres, T., Cetina Alcalá, V., & Ramírez Herrera, C, (2016). Calidad morfológica de frutos y endocarpios del nanche rojo (*Malpighia mexicana*, Malpighiaceae) [Image] (1st ed.). Pátzcuaro, México: Instituto de Ecología, A.C. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/abm/n117/2448-7589-abm-117-00037.pdf>.
- Muñoz, B., Sánchez, J., Montejo, L., Herrera, P., & Gamboa, A, (2012). *REPRODUCCIÓN DE PLANTAS NATIVAS Y NATURALIZADAS DEL ECOSISTEMA SABANA-CAMAGÜEY* [Image]. La Habana, Cuba: Beatriz Rodríguez Elías. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/280944988\\_REPRODUCCION\\_DE\\_PL](https://www.researchgate.net/publication/280944988_REPRODUCCION_DE_PL)

ANTAS\_NATIVAS\_Y\_NATURALIZADAS\_DEL\_ECOSISTEMA\_SABANA  
CAMAGUEY/download.

- n.d. *Malpighia*. [image] Available at:  
<<http://www.elhogarnatural.com/Arboles/Malpighia.htm>> [Accessed 4 February 2020].
- Ontiveros, J, (2020). LOS ANTIDEPRESIVOS Dr. med. José Alfonso Ontiveros - ppt descargar. Retrieved 12 February 2020, from <https://slideplayer.es/slide/123423/>.